

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-221799

(P2001-221799A)

(43) 公開日 平成13年8月17日 (2001.8.17)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 33/543	5 2 1	G 0 1 N 33/543	5 2 1
33/48		33/48	E
35/08		35/08	F
37/00	1 0 1	37/00	1 0 1

審査請求 未請求 請求項の数16 O L (全 17 頁)

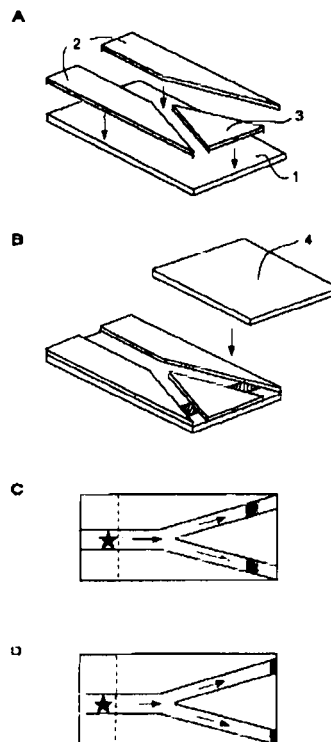
(21) 出願番号	特願2000-368440 (P2000-368440)	(71) 出願人	000131474 株式会社シノテスト 東京都千代田区神田神保町一丁目56番地
(22) 出願日	平成12年12月4日 (2000. 12. 4)	(72) 発明者	天田 武志 神奈川県相模原市大野台二丁目29番14号 株式会社シノテスト相模原事業所内
(31) 優先権主張番号	特願平11-344825	(72) 発明者	内藤 正宏 神奈川県相模原市大野台二丁目29番14号 株式会社シノテスト相模原事業所内
(32) 優先日	平成11年12月3日 (1999. 12. 3)		
(33) 優先権主張国	日本 (J P)		

(54) 【発明の名称】 判定部を複数有する被検物質の測定器具及び測定方法

(57) 【要約】

【目的】 抗原抗体反応等の特異的結合反応を利用して試料中の被検物質を目視又は機器を用いて測定する際に、試料中の被検物質の濃度の大小にかかわらず短時間に被検物質を測定することが可能であり、更に複数項目の被検物質を同時に測定することや、半定量が可能であり、しかもその判定の信頼性が高い被検物質の測定方法及び測定器具を提供する。

【構成】 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を、非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これらの各々の判定部の間に隔壁を設けてある試料中の被検物質の測定器具。及びこの測定器具を用いる測定方法。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を、非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これらの各々の判定部の間に隔壁を設けてある試料中の被検物質の測定器具。

【請求項2】 前記複数の判定部がお互いに連通していることを特徴とする、請求項1に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項3】 前記複数の判定部がお互いに連通していないことを特徴とする、請求項1に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項4】 前記担体の表面に被検物質に対する特異的結合物質であって前記複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部を前記複数の判定部の延長上に有する、請求項1～3のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項5】 前記担体が平底面を有する凹部を少なくとも一つ備えた容器であって、該平底面が特異的結合物質により被覆されている、請求項1～4のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項6】 前記担体が板状体であって、その表面が特異的結合物質により被覆されている、請求項1～4のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項7】 前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体である、請求項1～6のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項8】 前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原である、請求項1～6のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定器具。

【請求項9】 試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通している試料中の被検物質の測定器具の、該複数の判定部に試料を接触させる工程、

b. 前記複数の判定部に、被検物質に対する特異的結合物質であって、前記複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を接触させる工程、

c. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法。

【請求項10】 試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定さ

れて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通していない試料中の被検物質の測定器具の該複数の判定部に試料を接触させる工程、

b. 前記複数の判定部に、被検物質に対する特異的結合物質であって、前記複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を接触させる工程、

c. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法。

【請求項11】 試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通しており、更に被検物質に対する特異的結合物質であって該複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部を該複数の判定部の延長上に有する試料中の被検物質の測定器具の該粒子保持部に試料を接触させた後に、該複数の判定部に試料と粒子の混合物を接触させる工程、

b. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法。

【請求項12】 試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通しておらず、更に被検物質に対する特異的結合物質であって該複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部を該複数の判定部の延長上にそれぞれ有する試料中の被検物質の測定器具の該複数の粒子保持部に試料を接触させる工程、

b. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法。

【請求項13】 前記担体が平底面を有する凹部を少な

くとも一つ備えた容器であって、該平底面が特異的結合物質により被覆されている、請求項9～12のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

【請求項14】 前記担体が板状体であって、その表面が特異的結合物質により被覆されている、請求項9～12のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

【請求項15】 前記被検物質が抗原であり、前記特異的結合物質が抗体である、請求項9～14のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

【請求項16】 前記被検物質が抗体であり、前記特異的結合物質が抗原である、請求項9～14のいずれか1項に記載の試料中の被検物質の測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を、非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これらの各々の判定部の間に隔壁を設けてある試料中の被検物質の測定器具及びこれを用いる測定方法に関し、特に血液試料等の試料中に含まれる微量の被検物質までも短時間且つ簡便に測定を行うことが可能な試料中の被検物質の測定器具及び測定方法に関する。本発明は、特に化学、生命科学、食品衛生、環境科学及び臨床検査等の分野において有用なものである。

【0002】

【従来の技術】抗原と抗体、糖とレクチン、ヌクレオチド鎖とそれに相補的なヌクレオチド鎖、リガンドとレセプター等の特異的な親和性を有する物質間の反応を利用した試料中に含まれる微量の被検物質の測定器具又は方法は種々のものが知られている。

【0003】中でも、抗原と抗体の間の抗原抗体反応（免疫反応）を利用した免疫学的測定方法は広く実施されている。この免疫学的測定方法のうち間接凝集反応測定法は簡易かつ安価な方法であることから汎用されている。

【0004】この間接凝集反応測定法は、被検物質に対する抗体（被検物質が抗体の場合は抗原を使用することも可能）を結合した粒子（ラテックス粒子若しくはゼラチン粒子等の高分子粒子又は赤血球等）と被検物質を含むと推定される試料を、マイクロタイタープレート等の底面がU字状又はV字状になった測定容器内で混合し、反応させて、生じた被検物質を介した粒子間の凝集像を観察することにより、試料中の被検物質の存在の有無を判定するものである。

【0005】図10は、この間接凝集反応測定法により試料中の被検物質の測定を行なった場合の凝集像を示したものである。試料中に被検物質が存在しない（陰性）場合、抗体（又は抗原）を結合した粒子は凝集を起こさ

ないので重力によりそのまま沈降し、U字状又はV字状等の測定容器の内壁面に沿って転がり落ちて（滑り落ちて）測定容器の底面中央部に集まる。従って、陰性の場合、測定容器の上方から見ると、測定容器の底面中央部に粒子が収束した像が観察される（図10のA）。一方、試料中に被検物質が存在する（陽性）場合、抗体（又は抗原）が結合した粒子は被検物質を介して三次元的な凝集を起こして凝集塊を生成する。この凝集塊は、凝集を起こしていない粒子に比べると測定容器の内壁面上を転がり難く（滑り落ち難く）、転がり速度（滑り落ち速度）が小さいので、測定容器の内壁面に広がった状態で止まる。従って、陽性の場合、測定容器の上方から見ると、粒子が測定容器底面に広がった状態、即ち「ボタン」状の凝集像が観察でき（図10のB）、試料中に被検物質が存在することが確認できる。

【0006】しかしながら、この間接凝集反応測定法は、試料中の被検物質の存在の有無、つまり陽性又は陰性かを測定容器底面の粒子による円形の像の大小によって判定するものである。したがって、被検物質の濃度が低い試料の場合、測定容器底面中央部には被検物質を介して凝集した粒子と被検物質とは結合していない粒子の両方が混在していて、且つ凝集像の円が小さいので、陰性の場合との判別が困難であった。そして、この被検物質の濃度が低い試料の場合の判定の困難さゆえ、低濃度の被検物質を測定することができず、また時間をかけて凝集像を十分形成させてから判定しようとするため測定に要する時間が長くなり、通常測定時間は1時間以上であった。

【0007】また、間接凝集反応測定法では、被検物質以外の試料中の成分を介して、抗体（又は抗原）を結合した粒子が凝集したり、或いは抗体（又は抗原）を結合した粒子が測定容器の内壁面に結合して、試料中に被検物質が存在しない（陰性）にもかかわらずあたかも被検物質が存在する（陽性）ような凝集像を示す場合があった（非特異的凝集反応）。このように陰性の試料を陽性と誤って判定する可能性があるということは、臨床検査による疾病の診断においては重大な問題となっていた。

【0008】これに対し、特開昭64-69954号公報には、検体試料中の被検物質である抗原又は抗体に対応する抗体又は抗原を内壁に固定させた測定容器に検体試料を加え、同時に又は次いでこの検体試料を洗浄することなく測定容器に固定させたものと同一の抗体又は抗原或いは特異的結合の類縁体を固定させた不溶性担体粒子を測定容器に加え、発現する凝集反応の有無により検体試料中の被検物質である抗原又は抗体の有無を判定する免疫学的測定方法が開示されている。この測定方法において検体試料中に被検物質である抗原（又は抗体）が存在しない（陰性）場合の測定容器内の状態を上方から見ると、図10のAに示した凝集像と同様の像が観察される。また、検体試料中に被検物質である抗原（又は抗体）が存

在する（陽性）場合に測定容器内の状態を上方から見ると、図10のBに示した凝集像と同様の像が観察される。

【0009】上記特開昭64-69954号公報に記載の測定方法は、低濃度の被検物質を測定することができ、地帯現象を抑制でき、かつ短時間で明瞭な凝集像が得られる方法であるが、試料中の被検物質の存在の有無を測定容器底面の粒子による円形の像の大小によって判定するものであるため、被検物質の濃度が著しく低い試料の場合には陰性の場合との判別が困難であるとの問題は避け得ないものであった。

【0010】また、特開平2-124464号公報には、被測定物質（被検物質）に特異的に結合するか又はこれと競合する物質（抗体又は抗原等）を磁性粒子に固定化した磁性マーカー粒子とサンプル溶液（試料）とを混合し、この反応溶液に対し測定容器の所定の壁面領域の外側に配置した磁石を作用させ、これにより所定の壁面領域に集められた磁性マーカー粒子の分布状態に基づいてサンプル中の被測定物質を測定する免疫学的測定方法が開示されている。この測定方法においてサンプル中に被測定物質が存在しない（陰性）場合に測定容器内の状態を上方から見ると、図10のAに示した凝集像と同様の像が観察され、サンプル中に被測定物質が存在する（陽性）場合に測定容器内の状態を上方から見ると図10のBに示した凝集像と同様の像が観察される。

【0011】この特開平2-124464号公報に記載の測定方法によれば、磁性粒子を磁石により測定容器底面に引き寄せて磁性粒子の沈降速度を増大させることにより、測定容器底面の凝集像の形成を短時間で行わせ、判定に要する時間を短縮することができる。しかし、やはり試料中の被検物質の存在の有無を測定容器底面の粒子による円形の像の大小によって判定するものであるため、被検物質の濃度が低い試料の場合には陰性の場合との判別が困難であるとの点では変わりのないものであった。

【0012】また、従来の間接凝集反応測定法、特開昭64-69954号公報に記載の測定方法及び特開平2-124464号公報に記載の測定方法は、いずれも試料中の被検物質の存在の有無を測定容器底面の粒子による円形の像の大小によって判定するものであるため、試料が血液（全血試料）や糞便である場合、試料中の赤血球や食物残渣等の夾雑物も粒子と共に重力により測定容器の内壁面上を転がり落ちて（滑り落ちて）しまい、その試料中の被検物質の測定を行なうと、粒子の分布状態がその試料中に含まれる赤血球や食物残渣等の夾雑物により遮られて確認できず、陽性、陰性の判定が困難になるという問題が存在した。

【0013】更に、間接凝集反応測定法において、複数の被検物質を測定する場合には、測定する被検物質数分の測定容器を用いなければならず、また、被検物質に対する抗体又は抗原が結合した粒子についても、測定する

被検物質数分を用意する必要があり、操作は複雑なものとなっていた。

【0014】本発明者らは、特開平9-229938号公報に記載されているように、従来のような容器底面に集まった粒子の円形の像の大小ではなく、試料中の被検物質の有無を磁性粒子が磁石に近い位置、即ち面の端部に集まるか或いは担体の面の特異的結合物質で被覆された部分に集まるかにより判定する測定方法を発明している。

【0015】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の課題は、特開平9-229938号に記載されているような抗原抗体反応等の特異的結合反応を利用して試料中の被検物質を目視又は機器を用いて測定する際に、被検物質を短時間に測定することが可能であり、更に複数項目の被検物質を同時に測定することや、半定量が可能であり、しかもその判定の信頼性が高い測定器具及び測定方法を提供することである。

【0016】

【課題を解決するための手段】本発明は、試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を、非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これらの各々の判定部の間に隔壁を設けてある試料中の被検物質の測定器具である。

【0017】また、本発明は、試料中の被検物質の測定方法であって、

- a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通している試料中の被検物質の測定器具の、該複数の判定部に試料を接触させる工程、
- b. 前記複数の判定部に、被検物質に対する特異的結合物質であって、前記複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を接触させる工程、
- c. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法（第1の測定方法）である。

【0018】更に、本発明は、試料中の被検物質の測定方法であって、

- a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部がお互いに連通していない試料中の被検物質の測定器具の該複数の判定部に試料を接触させる工程、
- b. 前記複数の判定部に、被検物質に対する特異的結合物質であって、前記複数の判定部に固定された特異的結

合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を接触させる工程、

c. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法（第2の測定方法）である。

【0019】また、本発明は、試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部が互いに連通しており、更に被検物質に対する特異的結合物質であって該複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部を該複数の判定部の延長上に有する試料中の被検物質の測定器具の該粒子保持部に試料を接触させた後に、該複数の判定部に試料と粒子の混合物を接触させる工程、

b. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法（第3の測定方法）である。

【0020】更に、本発明は、試料中の被検物質の測定方法であって、

a. 試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定されて該特異的結合物質により被覆された判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてあり、かつ該複数の判定部が互いに連通しておらず、更に被検物質に対する特異的結合物質であって該複数の判定部に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部を該複数の判定部の延長上にそれぞれ有する試料中の被検物質の測定器具の該複数の粒子保持部に試料を接触させる工程、

b. 前記粒子を前記複数の判定部の各々に沿って前記担体の表面上を移動させる工程を含んでなり、前記複数の判定部の各々における粒子の分布状態から被検物質の測定を行うことを特徴とする、試料中の被検物質の測定方法（第4の測定方法）である。

【0021】

【発明の実施の形態】〔1〕試料中の被検物質の測定器具

（1）被検物質

本発明において測定を行う被検物質としては、タンパク質、糖質、脂質、核酸のような有機物質、無機物質等の生体関連物質であればいずれのものでもよい。具体的には、HBs抗原、抗HBs抗体、HBe抗原、抗HBe

抗体、抗HBc抗体、抗HCV抗体、抗HIV抗体、抗ATLV抗体等のウイルス関連の抗原又は抗体；大腸菌O157抗原、抗トレボネマ・パリダム（TP）抗体、抗マイコプラズマ抗体、抗ストレプトリジンO抗体（ASO）等の細菌関連の抗原又は抗体；免疫グロブリンG（IgG）、免疫グロブリンA（IgA）、免疫グロブリンM（IgM）、若しくは免疫グロブリンE（IgE）等の免疫グロブリン；C反応性タンパク質（CRP）、 α 1-酸性糖タンパク質、ハプトグロビン、補体C3、補体C4、リウマトイド因子等の炎症マーカー； α -フェトプロテイン、CEA、CA19-9等の腫瘍マーカー；ヒト胎盤絨毛性ゴナドトロピン等のホルモン；アレルゲン、アレルゲン特異IgE抗体等のアレルギー関連の抗原又は抗体；抗トロンビンI I I（ATIII）等の血液凝固系関連物質；フィブリン分解物（FDP）、Dダイマー等の線溶系関連物質；ABO式血液型抗体、不規則抗体等の血液型関連の抗原又は抗体；ウイルスのDNA又はRNA；細菌のDNA又はRNA；ヒト等の動物若しくは植物のDNA又はRNA；リボタンパク質(a)、フェリチン等の他の疾病に関連した物質；薬物；金属；毒物又は劇物等を例示することができる。

【0022】（2）試料

本発明において、試料とは、前記の被検物質が存在する可能性があり、且つその被検物質の存在の有無の確認又は場合によっては定量を行おうとする液状のものをいう。例えば、ヒト又は動物の血液、血清、血漿、尿、精液、髄液、唾液、汗、涙、腹水、羊水等の体液；ヒト若しくは動物の脳等の臓器、毛髪、皮膚、爪、筋肉、又は神経組織等の抽出液；ヒト又は動物の糞便の抽出液又は懸濁液；細胞或いは菌体の抽出液；植物の抽出液；穀物、野菜、果物、魚介類、肉類又は加工食品等の食品、水、茶、コーヒー、牛乳、又は果汁等の飲料、そして、飲料水、河川水、湖沼水、海水、又は土壌の懸濁液等の環境分析用試料等が挙げられる。

【0023】（3）特異的結合物質

本発明において、被検物質に対する特異的結合物質（以下、単に特異的結合物質ということがある。）とは被検物質に対し親和性を有する物質をいい、被検物質との特異的な相互作用により該被検物質に非共有結合的に安定に結合する物質をいう。例えば、特異的結合物質は、被検物質が抗原の場合にはその抗体であり、被検物質が抗体の場合にはその抗原又はその抗体に対する抗体であり、被検物質がヌクレオチド鎖の場合にはそれと相補的なヌクレオチド鎖である。ここで、抗体とは、抗体から作られる断片、例えば、Fab及びF(ab')₂等も含まれる。また、被検物質がリガンドの場合にはそのレセプターである。担体に固定する特異的結合物質は、被検物質を介しての結合が可能であれば、本発明における粒子に固定する特異的結合物質とそれぞれ同一でも異なってもよい。

【0024】(4) 担体

① 担体

本発明において、担体としては、特異的結合物質を固定することにより該特異的結合物質により被覆された判定部を複数有し、これら各々の判定部の間に隔壁を設けてある担体を使用する。また、担体は、該複数の判定部に試料等の溶液（液体）を接触させることができる限りいずれの形状、構造でもよく、例えば、容器や、板状体等が挙げられる。

【0025】また、担体の材質は、特異的結合物質を担体の表面上に物理的又は化学的に固定できる非吸水性の材質のものであれば何ら制限されず、例えば、ガラス、ポリスチレン、ポリ塩化ビニル、ポリアクリレート、ポリプロピレン、ナイロン、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリメタクリレート等の非吸水性の材質が挙げられる。

【0026】② 判定部

担体として容器を用いる場合、容器の凹部の形状は半球状、円筒形状、直方体形状等いずれの形状でもよく、その凹部の内壁面を特異的結合物質により被覆すればよい。凹部の形状が円筒形状、直方体形状等の平底面を有する形状である場合には、その平底面を特異的結合物質により被覆するのが好ましい。容器としては、平底面を有する凹部を少なくとも一つ備えた容器であって、その平底面が特異的結合物質により被覆されているのが好ましい。平底面を有する凹部を少なくとも一つ備えた容器としては、例えば、平底マイクロプレート、トレイ等が挙げられる。

【0027】担体として板状体を使用する場合、板状体の表面形状は円形、長方形、正方形等いずれの形状であってもよく、その表面を特異的結合物質により被覆すればよい。

【0028】また、本発明においては、特異的結合物質により被覆された複数の判定部の間には隔壁が設けられている。ここで、隔壁とは、各々の判定部の間を仕切ることができるようなものをいい、例えば、壁や溝等が挙げられる。また、この隔壁は、試料等の溶液（液体）を複数の判定部に導入する役目も果たしている。なお、この隔壁の長さや幅、深さは測定に支障のない範囲で適宜決めることができる。

【0029】図1及び図2は、このような隔壁が設けられた本発明の測定器具の例を示したものであり、各々の矢印は、担体の表面上を試料等の溶液（液体）を移動させる場合の試料の流れる方向の例を示したものである。

【0030】また、本発明において、隔壁で仕切られた判定部同士が連通しているとは、例えば、図1-A～Fのように、各々の判定部同士を試料等の溶液（液体）が行き来できるようになっていることを言う。更に、図2-A及びBは、隔壁で仕切られた判定部同士が連通していない担体を例示したものである。また、図1-A～F

の場合、例えば、★印部分に試料等の溶液（液体）を供給することにより、複数の判定部のいずれにも試料等の溶液（液体）を供給する事が可能である。更に、本発明においては、上記で例示した判定部同士が連通しているものを複数組み合わせることにより、一つの担体とすることもできる。この場合の担体を例示したものが図3である。

【0031】なお、本発明において試料等の溶液（液体）を複数の判定部に接触させる場合、図4に示すように試料等の溶液（液体）を供給する位置（★印部分）を判定部が設けられている位置より高くすることにより、★印部分と判定部との傾斜を利用して重力により試料を各々の判定部に供給することが可能である。

【0032】本発明においては、特異的結合物質により被覆された判定部の形状及び面積は、試料中の被検物質の存在の有無を判定することができる限り特に制限はない。

【0033】また、本発明においては、判定部を担体の表面に設けるに際して、該判定部を部分的に担体の表面に設けることが好ましい。これは、試料中に被検物質が存在する場合、即ち陽性の場合に特異的結合物質で被覆した部分と被覆していない部分の像の比較によって陽性であることの判断がより明確となり、陽性と陰性の判別、つまり試料中の被検物質の有無の判別が容易になるからである。ここで、「部分的」とは、判定部が偏在しており、担体の表面全体にわたって判定部となっていないことをいう。例えば、担体の表面の片側半分を判定部としたり、担体の表面に帯状に判定部を設けたりする場合が挙げられる。

【0034】特異的結合物質の担体の表面への固定化は、疎水結合、親水吸着等の物理的吸着法又は架橋試薬等による化学的結合法等によって行うことができる。物理的吸着法による場合は、公知の方法に従い、緩衝液等に溶解した特異的結合物質と担体の面とを接触させることにより行うことができる。例えば、担体が容器の場合、緩衝液等に溶解した特異的結合物質を該容器の凹部に入れて静置することにより接触させ、約2℃～約40℃で約10分～約1日間吸着反応を行わせた後、凹部の液を吸引除去し、緩衝液等で洗浄すればよい。

【0035】また、架橋試薬による化学的結合法により行う場合は、日本臨床病理学会編「臨床病理臨時増刊特集第53号 臨床検査のためのイムノアッセイ技術と応用」、臨床病理刊行会、1983年、日本生化学会編「新生化学実験講座1 タンパク質IV」、東京化学同人、1991年等に記載の公知の方法に従い、被検物質に対する特異的結合物質と担体をグルタルアルデヒド、カルボジイミド、イミドエステル、マレイミド等の二価性の架橋試薬と混合、接触させ、特異的結合物質と担体のそれぞれのアミノ基、カルボキシル基、チオール基、アルデヒド基、水酸基等と反応させることにより固定することがで

きる。例えば、担体が容器の場合、該容器の凹部にグルタルアルデヒド、カルボジイミド、イミドエステル、マレイミド等の二価性の架橋試薬を加え、静置して反応させる。次いでこれに特異的結合物質を加えて静置することにより反応させる。場合によっては、その後これに架橋反応の反応停止剤を添加すること等により反応を停止させる。そして、緩衝液等で洗浄を行う。

【0036】また、本発明において、担体の表面を特異的結合物質により部分的に被覆して判定部を形成する方法としては、例えば、担体表面の判定部としたい部分にのみ特異的結合物質及び／又は架橋試薬を滴下して上記方法により固定化を行なう方法、担体表面の判定部としたい部分の周囲をプラスチック板等で囲ってこの囲まれた部分に特異的結合物質及び／又は架橋試薬を滴下して上記方法により固定化を行なう方法、或いはスポンジ等の吸収体に特異的結合物質及び／又は架橋試薬を吸収させ、担体表面の判定部としたい部分に置いて接触させたり又は塗布して上記方法により固定化を行なう方法等が挙げられる。

【0037】また、本発明においては、複数の判定部における各々の判定部での特異的結合物質の担体表面への固定量を変化させることにより、試料中の被検物質の濃度の高低に応じて容易に半定量が可能になる。例えば、担体に特異的結合物質を固定する際に、複数の判定部の一つに高濃度の特異的結合物質を用いれば固定量が多くなって感度を高めることができる。また、別の判定部に低濃度の特異的結合物質を用いれば、固定量が少なくなって感度を低下させることができる。これにより、試料中の被検物質の濃度の高低によって、すなわち、被検物質の濃度が高い場合には、特異的結合物質の固定量の多い判定部でも少ない判定部でも検出でき、被検物質の濃度が低い場合は、固定量の多い判定部においてのみ検出できるというように、適当な条件を設定することで試料中の被検物質の半定量が可能となる。

【0038】更に、必要があれば非特異的反応を抑制するため、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン若しくはその塩等の各種タンパク質、脱脂粉乳等を特異的結合物質を固定した判定部に接触させること等の公知の方法により、特異的結合物質を固定した担体をマスキングしてもよい。例えば、担体が容器である場合には、判定部を有する該容器の凹部にウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン又はその塩等の各種タンパク質等を含む緩衝液等を加えて静置し、判定部を有する容器の凹部の表面を各種タンパク質等でコーティングした後、凹部の液を吸引除去することにより行うことができる。

【0039】(6) 粒子

① 粒子

本発明において粒子としては、一般に間接凝集反応に用いられる粒子を用いることができる。例えば、リボソ-

ム、ラテックス粒子、ゼラチン粒子、ポリアクリルアミド粒子、マイクロカプセル、エマルジョン等の有機高分子粒子、ガラスビーズ、シリカビーズ、ベントナイト等の無機高分子粒子、他の人工粒子、又は赤血球等を挙げることができる。

【0040】また、粒子として磁性粒子を用いることもできる。この磁性粒子は、少なくとも外部から磁石を作用させている間は磁化する粒子であればよい。この磁性粒子としては、例えば、鉄、コバルト、ニッケル等の強磁性金属、これらの強磁性金属を含む合金、非磁性体中に強磁性金属又は強磁性金属を含む合金を含有するもの、強磁性金属中又は強磁性金属を含む合金中に非磁性体を含有するもの等の強磁性体を単独で粒子状に成形した粒子、強磁性体を核としてその表面をポリスチレン、シリカゲル、ゼラチン、ポリアクリルアミド等の高分子物質で被覆した粒子、ポリスチレン、シリカゲル、ゼラチン、ポリアクリルアミド等の高分子物質の粒子を核として強磁性体を被覆した粒子、赤血球、リボソーム又はマイクロカプセル等の閉じた袋状の物質に強磁性体を封入した粒子等を挙げることができる。なお、この磁性粒子は、外部から磁石を作用させている間は磁化し、外部からの磁石の遮断により速やかに減磁する性質を持つものであることが特に好ましく、そのような磁性粒子としては、例えば、強磁性体である酸化鉄(III) (Fe_2O_3)を粒子内に分散させた磁性粒子である「Dynabeads M-450 uncoated (商品名) (ダイナル社製)」が挙げられる。

【0041】更に、粒子としては、色素を被覆するか又は色素を粒子中に分散若しくは封入させることにより着色したものを使用してもよい。

【0042】粒子の粒子径は、好ましくは $0.01\sim 100\ \mu\text{m}$ であり、特に好ましくは $0.5\sim 10\ \mu\text{m}$ である。また、粒子の比重は、分散媒中で沈降する比重であれば良く、例えば比重 $1\sim 10$ のものが好ましい。

【0043】本発明においては、特異的結合物質を固定した粒子を用いるが、特異的結合物質を粒子に固定するには、特異的結合物質を前記の粒子の表面に、疎水結合、親水吸着等の物理的吸着法、共有結合等の化学的結合法又はこれらの方法の併用等により行うことができる。

【0044】特異的結合物質の粒子への固定を物理的吸着法により行う場合は、公知の方法に従って、該特異的結合物質と粒子とを緩衝液等の溶液中で混合し接触させることにより行うことができる。例えば、特異的結合物質と粒子を緩衝液等の溶液中で混合し攪拌することにより接触させ、約 $2^\circ\text{C}\sim 40^\circ\text{C}$ で約10分～約1日間吸着反応を行わせた後、得られた粒子を緩衝液等で洗浄すればよい。

【0045】また、特異的結合物質の粒子への固定を架橋試薬による化学的結合法によって行う場合は、日本臨床病理学会編「臨床病理臨時増刊特集第53号 臨床検査

のためのイムノアッセイ技術と応用」, 臨床病理刊行会, 1983年、日本生化学会編「新生化学実験講座1 タンパク質IV」, 東京化学同人, 1991年等に記載の公知の方法に従い、特異的結合物質と粒子をグルタルアルデヒド、カルボジイミド、イミドエステル、マレイミド等の二価性の架橋試薬と混合、接触させ、特異的結合物質と粒子のそれぞれのアミノ基、カルボキシル基、チオール基、アルデヒド基、水酸基等の官能基を架橋試薬と反応させることにより固定することができる。例えば、粒子を含む緩衝液等にグルタルアルデヒド、カルボジイミド、イミドエステル、マレイミド等の二価性の架橋試薬を加え、攪拌し反応させる。次にこれに特異的結合物質を加え、攪拌して反応させる。場合によっては、その後これに透析、ゲルろ過等の処理により架橋試薬を除くか若しくは架橋反応の反応停止剤を添加すること等により反応を停止させる。そして、得られた粒子を緩衝液等で洗浄すればよい。

【0046】また、特異的結合物質の粒子への固定量を変更することにより、試料中の被検物質の濃度の高低に応じて容易に感度を変更することができる。例えば、粒子に特異的結合物質を固定する際に、高濃度の特異的結合物質を用いれば固定量が多くなって感度を高めることができる。

【0047】また、粒子に特異的結合物質を固定する際には、粒子に複数種類の被検物質に対する特異的結合物質を同時に固定させてもよいし、又は複数種類の被検物質に対する特異的結合物質をそれぞれ別々の粒子に固定させてもよい。

【0048】なお、必要があれば非特異的反応を抑制するため、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン又はその塩等の各種タンパク質、脱脂粉乳等を特異的結合物質を固定した粒子に接触させること等の公知の方法により、該粒子をマスキングしてもよい。例えば、マスキングは特異的結合物質を固定した粒子をウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン又はその塩等の各種タンパク質等を含む緩衝液等に加え静置し、該粒子の表面を各種タンパク質等でコーティングすることにより行うことができる。

【0049】② 粒子保持部

本発明においては、特異的結合物質を固定した粒子を保持した粒子保持部を担体に設置することができる。この粒子保持部は、試料と接触するまで粒子を保持させるようにしたものである。この粒子保持部は、各々の判定部の延長上に設置されている必要があるが、その他、形状、大きさ等については、特に制限はない。なお、この各々の判定部の延長上に設置されているということであるが、これは、粒子保持部に試料を接触させた場合に、粒子或いは更に試料が各々の判定部に移動することが可能な位置に設置されているということである。例えば、担体として容器を用いる場合には、各々の判定部の試料

を移動させたい方向の上流（上部）又はその周辺部に粒子保持部を設置し、粒子保持部に試料を接触させた場合に該試料及び粒子が担体の各々の判定部に移動できるようにしてもよい。また、担体として板状体を用いる場合には、例えば、試料を移動させたい方向の上流に粒子保持部を設置し、粒子保持部に試料を接触させた場合に該試料及び粒子が担体の各々の判定部に移動できるようにしてもよい。なお、粒子保持部は、複数あってもよいし、又は一つでもよい。

【0050】また、該粒子保持部は、例えば、粒子を適当な分散媒に分散させた粒子分散液を多孔性吸水体に含浸させた後に乾燥させ作製することができる。また、前記粒子分散液を多孔性吸水体に含浸させずに、凍結乾燥等の方法で錠剤状に成型してもよい。また、前記粒子分散液を担体に直接塗布等して載せ、これを凍結乾燥等の方法で乾燥させてもよい。粒子の分散媒としては、例えば、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等の各種緩衝液又は生理食塩水等を用いることができる。尚、この緩衝液のpHについては、pH4～12の範囲内にあることが好ましい。

【0051】また、多孔性吸水体としては、例えば、ろ紙、ペーパータオル若しくはティッシュペーパーなどの紙類、グラスファイバーフィルタ、スポンジなどの多孔質体、レーヨン若しくはポリエステルなどの化学繊維、布、不織布又は綿等の液体を吸収する性質を持つ材料よりなるものであればどのようなものを用いてもよい。なお、この多孔性吸水体の形状、大きさについては特に制限はない。

【0052】前記多孔性吸水体に、前記粒子分散液を含浸させる方法としては、例えば、浸漬、スプレー等の方法で行うことができる。また、該粒子分散液が含浸した多孔性吸水体は凍結乾燥、又は静置あるいは乾燥機などを用いて風乾させてもよい。

【0053】〔2〕本発明による第1及び第2の測定方法

本発明の第1及び第2の測定方法は、以下のような操作により行えばよい。

【0054】（1）複数の判定部に試料を接触させる工程

本発明による第1及び第2の測定方法においては、まず、先に詳述した、特異的結合物質を固定して該特異的結合物質により被覆した判定部を非吸水性の材質よりなる担体の表面に複数有し、かつこれら各々の判定部の間に隔壁を設けてある測定器具において、担体の該複数の判定部に被検物質の存在が疑われる試料を接触させる。

【0055】ここで、試料を添加する位置としては、試料が各々の判定部に移動できるような位置であれば、どこに試料を添加してもよい。例えば、複数の判定部に直接試料を接触させてもよいし、又は、試料の移動方向に

照らして各々の判定部の上流等に試料を添加することにより、各々の判定部と試料とを接触させることができる。この判定部の上流とは、判定部以外の箇所であって、前記の担体において、接触させた試料を、自然に又は担体を傾けること等により、複数の判定部に移動させ、接触させることが可能な位置のことである。例えば、複数の判定部と同一平面上にある部位、又は複数の判定部と溝などによりつながっている部位等を挙げることができる。担体として容器を用いる場合には、例えば、該容器の凹部に試料を添加することにより容器の凹部の内壁上にある各々の判定部と試料とを接触させることができる。また、担体として板状体を用いる場合には、例えば、複数の判定部に直接試料を接触させてもよいし、又は、試料の移動方向に照らして各々の判定部の上流に試料を添加することにより、各々の判定部と試料とを接触させることができる。

【0056】また、複数の判定部同士が連通している場合には、複数の判定部の1つに試料を接触させた後に、該試料を他の判定部に接触させるようにしてもよい。更に、図1-A~Fのように複数の判定部が連通している場合には、図1-A~Fに示した★印の箇所に試料を供給するだけで、複数の判定部のいずれにも試料を供給することができるので、好ましい。

【0057】更に、試料は、例えば希釈液により希釈して判定部に接触させることができる。試料の希釈液としては、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等の各種緩衝液又は生理食塩水等を用いることができる。なお、この緩衝液のpHについては、pH4~12の範囲内にあることが好ましい。

【0058】また、試料の希釈液には、ウシ血清アルブミン、ヒト血清アルブミン、カゼイン、又はその塩等の各種タンパク質、塩化ナトリウム等の各種塩類、各種糖類、脱脂粉乳、正常ウサギ血清等の各種動物血清、アジ化ナトリウム等の各種防腐剤、非イオン性界面活性剤、両イオン性界面活性剤、陰イオン性界面活性剤等の各種界面活性剤等の添加剤を適宜加えて用いることができる。

【0059】そして、これらの添加剤を加える際の濃度は特に限定されるものではないが、0.001~10% (w/v) が好ましく、特に0.01~5% (w/v) が好ましい。

【0060】また、界面活性剤としては、ソルビタン脂肪酸エステル、グリセリン脂肪酸エステル、デカグリセリン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレングリセリン脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル、ポリオキシエチレンアルキルエーテル、ポリオキシエチレンフィトステロール、ポリオキシエチレンフィトスタノール、ポリオキシエチレンアルキルフェニルエーテル、ポリオキシエチレンヒマシ油、硬化ヒマシ油、ポリオキシ

エチレンラノリン等の非イオン性界面活性剤、酢酸ベタイン等の両性界面活性剤又はポリオキシエチレンアルキルエーテル硫酸塩若しくはポリオキシエチレンアルキルエーテル酢酸塩等の陰イオン性界面活性剤等を挙げることができる。

【0061】上記のように、担体の判定部に試料を接触させた後に、この判定部に接触させた試料を除去してもよい。この判定部に接触させた試料の除去は、吸水性材料よりなる試料吸収体を担体の表面上又は各々の判定部上の試料に接触させて試料を吸収させたり、ピペットなどで担体の表面上又は各々の判定部上の試料を吸い取ったり、又は担体を裏返して試料を下に落とすこと等により行うことができる。また、吸水性材料よりなる試料吸収体としては、例えば、多孔性吸収体、ろ紙、ペーパータオル若しくはティッシュペーパー等の紙類、グラスファイバーフィルタ、高分子吸収体、スポンジ等の多孔質体、レーヨン若しくはポリエステル等の化学繊維、布、不織布又は綿等の液体を吸収する性質を持つ材料よりなるものであればどのようなものを用いても良い。なお、この試料吸収体の形状、大きさについては特に制限はない。

【0062】なお、試料吸収体を担体の表面上又は各々の判定部上の試料に接触させて試料を吸収させたり、ピペットなどで担体の表面上又は各々の判定部上の試料を吸い取って各々の判定部に接触させた試料の除去を行う場合には、試料が特異的結合物質により被覆された各々の判定部の上をスムーズに移動できるように、試料が移動していく方向、即ち特異的結合物質が被覆された該各々の判定部の下流又は水平方向から試料を吸収させたり、吸い取ることが好ましい。

【0063】なお、各々の判定部に接触させた試料を除去した後に、上記の試料の希釈液又は、緩衝液等でこの担体の表面を洗浄しても良い。

【0064】(2) 複数の判定部に粒子を接触させる工程

上記のように、複数の判定部に試料を接触させた後に、被検物質に対する特異的結合物質であって前記担体に固定された特異的結合物質と同一又は異なる特異的結合物質が固定された粒子を該複数の判定部に接触させる。ここで、粒子を添加する位置としては、粒子が各々の判定部に移動できるような位置であれば、どこに粒子を添加してもよい。例えば、複数の判定部に直接粒子を接触させてもよいし、又は、粒子の移動方向に照らして各々の判定部の上流等に粒子を添加することにより、各々の判定部と粒子とを接触させることができる。この判定部の上流とは、判定部以外の箇所であって、前記の担体において、接触させた粒子を、自然に、磁石を作用させることにより又は担体を傾けること等により、複数の判定部に移動させ、接触させることが可能な位置のことである。例えば、複数の判定部と同一平面上にある部位、又

は複数の判定部と溝などによりつながっている部位等を挙げることができる。担体として容器を用いる場合には、例えば、該容器の凹部に粒子を添加することにより容器の凹部の内壁面上にある各々の判定部と粒子とを接触させることができる。また、担体として板状体を用いる場合には、例えば、複数の判定部に直接粒子を接触させてもよいし、又は、粒子の移動方向に照らして各々の判定部の上流に粒子を添加することにより、各々の判定部と粒子とを接触させることができる。また、複数の判定部同士が連通している場合には、複数の判定部の1つに粒子を接触させた後に、該粒子を他の判定部に接触させるようにしてもよい。

【0065】更に、図1-A~Fのように複数の判定部が連通している場合には、図1-A~Fに示した★印の箇所粒子を供給するだけで、複数の判定部のいずれにも粒子を供給することができるので、好ましい。

【0066】また、特異的結合物質を固定した粒子のかわりに、被検物質又はその類縁体を固定させた粒子を用いても良い。ここで、被検物質の類縁体とは、被検物質の一部分、被検物質に別の物質が結合したもの、被検物質の構造の一部分が置換されたもの等であって、被検物質の特異的結合物質と結合する部分の構造を有し、特異的結合物質に結合することができる物質のことである。例えば、被検物質が抗原の場合、この抗原の抗原決定基を含む物質をこの被検物質の類縁体として挙げることができる。

【0067】また、粒子は、例えば適当な分散媒に分散して担体に接触させることができる。粒子の分散媒としては、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン緩衝液、リン酸緩衝液、リン酸緩衝生理食塩水等の各種緩衝液又は生理食塩水等を用いることができる。なお、この緩衝液のpHについては、pH4~12の範囲内にあることが好ましい。

【0068】また、この粒子の分散媒には、上記の試料の希釈液の項で記載した添加剤をそれぞれ適宜加えて用いることができる。そして、これらの添加剤を加える際の濃度は特に限定されるものではないが、0.001~10% (w/v) が好ましく、特に0.01~5% (w/v) が好ましい。

【0069】なお、本発明においては、あらかじめ前記の試料と粒子を試験管等の容器で接触させて得た、試料と粒子の混合液を複数の判定部に接触させてもよい。また、この試料と粒子の混合液は、その一部又は全部をそのまま担体の各々の判定部に接触させてもよいし、混合液の下部に沈降した若しくは沈降させた粒子、又は混合液中の粒子濃度が高い部分を担体の各々の判定部に接触させてもよい。

【0070】(3) 粒子を複数の判定部に沿って前記担体の表面上を移動させる工程

上記のように、担体の各々の判定部に粒子を接触させた後、この各々の判定部に沿って前記担体の表面上を移動

させる。この各々の判定部に沿って前記担体の表面上を粒子を移動させることは、磁石を作用させることにより行ったり、担体を傾けること等により行うことができる。

【0071】① 磁石を作用させることによる移動
磁石を作用させることにより粒子を移動させる場合、粒子は前記の磁性粒子を使用する。そして、この磁性粒子が特異的結合物質により被覆された各々の判定部に沿って前記担体の表面上を移動するように磁石を作用させる。

【0072】なお、担体の各々の判定部上の磁性粒子の分布状態により陽性又は陰性の判定を行なうことができる限り、担体の各々の判定部に磁性粒子を接触させる前又は接触させている間に磁石を作用させてもよい。

【0073】担体の表面全体が特異的結合物質により被覆された複数の判定部となっている場合には、磁性粒子を各々の判定部（担体表面）に沿って、担体の表面上を移動させることができる位置であれば、どこに磁石を配置してもよく、例えば、判定部が平面である場合には、その同一平面上に磁石を配置すればよい。

【0074】また、担体の表面が部分的に特異的結合物質により被覆された複数の判定部となっている場合には、磁性粒子を各々の判定部に沿って、担体の表面上を移動させたい方向に移動させることができる位置であればどこに磁石を配置してもよく、例えば、移動させたい方向やその周辺に配置すればよい。より具体的には、例えば、担体表面の片側半分を特異的結合物質により被覆した複数の判定部を有する測定器具を用いた場合、担体表面の特異的結合物質により被覆されていない部分から被覆されている部分（判定部）の方向に磁性粒子が移動するように磁石を配置するのが好ましい。

【0075】また、担体表面が特異的結合物質により帯状に被覆された複数の判定部を有する測定器具を用いた場合は、担体表面の特異的結合物質により被覆されていない部分からその帯状被覆部分を通して特異的結合物質により被覆されていない部分の方向（例えば図1-Aの矢印方向）に磁性粒子が移動するように磁石を配置するのが好ましい。

【0076】磁石としては、磁場を発生して磁性粒子を磁化するものであればいずれのものでもよく、永久磁石、電磁石等を用いればよい。また、磁束密度は、用いる磁性粒子と担体の面との相互作用に依存するが、通常、5~100 ガウスである。

【0077】試料に被検物質が存在する場合、該被検物質は判定部に固定された特異的結合物質に結合する。この場合磁性粒子に磁石を作用させると、該磁性粒子は磁石に吸引されて担体の判定部に沿って担体の表面上を該磁石の方向に移動するが、その過程で判定部に固定された特異的結合物質に結合した被検物質に出会うと、該磁性粒子は被検物質及びこれに結合している特異的結合物

質を介して判定部に結合して移動を停止するか又は移動が著しく遅くなる。

【0078】担体表面の特異的結合物質が固定されていない領域では、磁性粒子の移動は該粒子と担体表面との相互作用及び磁場の強さに依存して磁石の方向にすみやかに移動する。一方、担体表面の特異的結合物質が固定されている領域（判定部）では、該判定部に固定されている特異的結合物質に被検物質が結合している場合と結合していない場合とでは磁性粒子の移動速度に大きな差を生じる。

【0079】即ち、試料中に被検物質が存在しない場合、判定部に固定されている特異的結合物質は被検物質を結合しないので、磁性粒子は親和性を示さず、特異的結合物質が固定されていない領域と同様にすみやかに磁石の方向に移動する。従って、試料中に被検物質が存在しない場合、磁性粒子は磁石に近い位置、即ち担体の端部に集まる。

【0080】一方、試料中に被検物質が存在する場合、判定部に固定されている特異的結合物質は被検物質を結合するので、磁性粒子は被検物質及び特異的結合物質を介して担体に結合して移動が停止又は著しく遅くなる。従って、試料中に被検物質が存在する場合、磁性粒子は特異的結合物質で被覆された部分である判定部に集まる。

【0081】なお、担体として容器を使用した場合、容器に添加された磁性粒子はその比重により容器の凹部の下方に沈降する。この際、容器の上部から底面方向に磁石を作用させることにより磁性粒子の沈降を促進してもよい。

【0082】担体の特異的結合物質を被覆した各々の判定部に沿って担体の表面上を磁性粒子が移動するように磁性粒子に磁石を作用させる場合、磁性粒子と被検物質が結合していない該判定部の面との相互作用は弱く、その移動速度はほぼ磁場の強さに依存する。従って、大きな移動速度を必要とする場合、すなわち短時間で測定結果を求めるときには強い磁場を発生する磁石を使用すればよい。また、電磁石を用いて磁場の強さを調節しながら測定を行うことも可能である。

【0083】② 担体を傾けることによる移動
担体を傾けることにより移動させる場合、粒子が担体の特異的結合物質により被覆された各々の判定部に沿って前記担体の表面上を移動するように担体を傾ける。なお、担体を傾ける角度は、粒子が重力によって担体の特異的結合物質により被覆された各々の判定部に沿って移動するような角度であればよく、90°以下の角度を適宜選択すればよいが、25°から90°の間の角度が好ましく、特に45°から65°の間の角度が好ましい。

【0084】また、担体の判定部上の粒子の分布状態により陽性又は陰性の判定を行なうことができる限り、担体の判定部に粒子を接触させる前又は接触させている間

に担体を傾けてもよい。

【0085】担体の表面全体が特異的結合物質により被覆された複数の判定部となっている場合には、担体を傾ける方向はいずれの方向でもよい。

【0086】また、担体の表面が部分的に特異的結合物質により被覆された判定部となっている場合には、粒子が担体の特異的結合物質により被覆されている部分（判定部）の上を移動するような方向に担体を傾けて、重力により粒子を移動させればよい。例えば、移動させたい方向を下にして担体を配置すればよい。より具体的には、例えば、担体表面の片側半分を特異的結合物質により被覆して判定部とした担体を用いた場合、担体表面の特異的結合物質により被覆されていない部分から被覆されている部分（判定部）の方向に粒子が移動するように担体を傾ける。

【0087】また、例えば、担体表面が特異的結合物質により帯状に被覆された複数の判定部となっている担体を用いた場合は、担体表面の特異的結合物質により被覆されていない部分からその帯状被覆部分（判定部）を通して特異的結合物質により被覆されていない部分の方向（例えば図1-Aの矢印方向）に粒子が移動するように担体を傾ける（この場合図1-Aの矢印方向に傾ければよい）。

【0088】試料に被検物質が存在する場合、該被検物質は担体の各々の判定部に固定された特異的結合物質に結合する。この場合に粒子が担体の特異的結合物質により被覆された各々の判定部に沿って該担体の表面上を移動するように担体を傾けると、該粒子は重力により担体の各々の判定部に沿って傾きの下方向に移動するが、その過程で判定部に固定された特異的結合物質に結合した被検物質に出会うと、該粒子は被検物質及びこれに結合している特異的結合物質を介して担体に結合して移動を停止するか又は移動が著しく遅くなる。

【0089】担体表面の特異的結合物質が固定されていない領域では、粒子の移動は該粒子と担体表面との相互作用及び担体を傾ける角度に依存し、該粒子は傾きの下方向にすみやかに移動する。一方、判定部の特異的結合物質が固定されている領域（判定部）では、該判定部に固定されている特異的結合物質に被検物質が結合している場合と結合していない場合とでは粒子の移動速度に大きな差を生じる。

【0090】即ち、試料中に被検物質が存在しない場合、判定部に固定されている特異的結合物質は被検物質を結合しないので、粒子は親和性を示さず、特異的結合物質が固定されていない領域と同様にすみやかに傾きの下方向に移動する。従って、試料中に被検物質が存在しない場合、粒子は担体の下方向の端部に集まる。一方、試料中に被検物質が存在する場合、担体表面に固定されている特異的結合物質は被検物質を結合するので、粒子は被検物質及び特異的結合物質を介して担体に結合して

移動が停止又は著しく遅くなる。従って、試料中に被検物質が存在する場合、粒子は特異的結合物質で被覆された部分である判定部に集まる。

【0091】担体を傾けて粒子を担体の特異的結合物質を被覆した各々の判定部に沿って該担体の表面上を移動させる場合、粒子と被検物質が結合していない担体表面との相互作用は弱く、その移動速度は担体を傾ける角度にほぼ依存する。従って、大きな移動速度を必要とする場合、すなわち短時間で測定結果を求めるときには担体を傾ける角度を大きくすればよい。また、担体を傾ける角度を経時的に変化させても良い。更に、板状体の担体を用いる場合、その板状体を湾曲させ板状体の角度を変化させることにより、粒子が移動する速度を変化させても良い。

【0092】(4)被検物質の有無を判定する
上記のように、粒子を担体の特異的結合物質により被覆された各々の判定部に沿って該担体の表面上を移動させた後、この各々の判定部における粒子の分布状態から被検物質の有無を判定する。この担体の各々の判定部上の粒子の分布状態、即ち像は、容易に肉眼により、あるいは吸光度測定やパターン認識によるマイクロプレートリーダー等の光学的読み取り装置により確認することができる。

【0093】図6のCは、底面に隔壁により仕切られた3つの判定部が設けられた長方形の直方体型の容器よりなる測定器具を用いて被検物質が存在する試料(陽性の試料)について測定を行なった場合の該測定器具を上方からみた図であり、図6のDは、底面に隔壁により仕切られた3つの判定部が設けられた長方形の直方体型の容器よりなる測定器具を用いて被検物質が存在しない試料(陰性の試料)について測定を行なった場合の該測定器具を上方からみた図である。陽性の場合、底面の特異的結合物質で被覆されていない部分から移動してきた粒子は判定部にトラップされる。

【0094】図7のCは、表面に溝により仕切られた2つの判定部が設けられた長方形の板状体よりなる測定器具を用いて2種類の被検物質が存在する試料(それぞれの被検物質が陽性の試料)について測定を行なった場合の該測定器具を上方からみた図であり、図7のDは、かかる測定器具を用いて被検物質が存在しない試料(陰性の試料)について測定を行なった場合の該測定器具を上方からみた図である。陽性の場合、溝の底面の特異的結合物質で被覆されていない部分から移動してきた粒子はそれぞれの被検物質に対応する(判定部)にトラップされる。

【0095】更に、複数の判定部同士が連通していない測定器具の場合には、試料供給路の幅を変化させること等によって、試料中の被検物質の濃度の高低に応じて容易に半定量が可能となる。例えば、図5のように複数の判定部において、各々の判定部の面積に差を設けると、

試料の供給量は同じでも、判定部の面積が小さい方が、判定部への試料中の被検物質の接触量が相対的に多くなり、感度を高めることができる。すなわち、試料中の被検物質の濃度が高い場合には、判定部の面積が小さい方でも大きい方でも検出でき、濃度が低い場合は、面積が小さい方のみで検出できるというように、適当な条件を設定することで半定量が可能となる。

【0096】また、特異的結合物質のかわりに、被検物質又はその類縁体を固定した粒子を用いる場合、第1及び第2の測定方法により得られる陽性又は陰性の粒子の分布状態と逆の結果が得られる。

【0097】〔3〕本発明による第3及び第4の測定方法

本発明による第3及び第4の測定方法においては、まず、先に試料中の被検物質の測定器具で詳述したように、試料中の被検物質に対する特異的結合物質が固定された粒子を保持した粒子保持部に、被検物質の存在が疑われる試料を接触させる。試料を粒子保持部に接触させる場合には、該粒子保持部に試料を直接接触させてもよいし、又は、試料の移動方向に照らして粒子保持部の上流に試料を接触させた後、該試料を粒子保持部へ移動させることにより接触させてもよい。上記のように、担体の粒子保持部に被検物質の存在が疑われる試料を接触させると、該粒子保持部に保持された粒子は、該試料に分散し該粒子保持部から脱離する。その後、粒子及び試料を担体の表面上を自然に又は担体を傾けること等により判定部の方向へ移動させる。この後、粒子を複数の判定部に沿って担体の表面上を移動させることは、磁石を作用させることや、担体を傾けること等により行うことができ、前述の第1及び第2の測定方法で説明したとおりである。また、本発明による第3及び第4の測定方法において、上記した以外のことについては、前述の第1及び第2の測定方法での態様と同様である。

【0098】〔5〕確認試験

なお、本発明の各測定方法及び測定器具は、確認試験に使用することができる。確認試験とは、即ち、試料中の被検物質の測定において試料中に被検物質が存在する

(陽性)と判定された場合に、その判定結果が真に被検物質の存在によるものか、又は非特異的反応によるものかを確認するための試験のことである。試料中の被検物質を特異的結合物質により吸収して測定を行う、通常の確認試験に本発明の測定方法及び測定器具を適用することができる。

【0099】〔6〕イムノクロマトグラフィー法との違い

なお、特公平7-18878号公報や特表平9-506434号公報に記載されている、いわゆるイムノクロマトグラフィー法では、担体に吸水性の材質が用いられており、液体試料が担体中の微細な孔を毛細管現象によっ

て流れる間に抗原抗体反応を行わせ、試料中の被検物質の存在の有無を判定するものである。これに対して、本発明は、試料中の被検物質を、粒子が担体の表面上にある特異的結合物質で被覆された部分（判定部）に集まるか否かにより測定するものである。従って、担体には非吸水性の材質を用い、かつ磁性粒子に磁石を作用させること、または粒子に重力を作用させること等により、該磁性粒子又は該粒子を担体の表面上を判定部に沿って移動させて測定を行うものであるので、本質的にイムノクロマトグラフィー法の原理とは異なるものである。

【0100】

【実施例】以下、本発明を実施例により説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0101】〔実施例1〕

（血液試料中のHBs抗原及びTP抗体の測定）

(1) 抗HBs抗体及びTP抗原固定測定器具の作製
アクリル樹脂押出板1（幅25mm、奥行き60mm、厚さ1mm）〔アクリサンデー社製〕の上に一方の角に直角を持つ台形の2枚のアクリル樹脂押出板2（幅10mm、底辺60mm、上辺30mm、厚さ0.5mm）及び二等辺三角形のアクリル樹脂押出板3（底辺15mm、上辺20mm）〔アクリサンデー社製〕を図7のAに示すように溶剤で貼り合わせて、図7のBに示されるようなアクリル樹脂押出板2及び3で囲まれた高さ0.5mmの分岐した溝が設けられた板状体を作製した。この板状体の3枚のアクリル樹脂押出板に囲まれた図7のBに示される2方向に伸びた溝の手前の端から5mmより10mmの部分に、一方には抗HBs抗体溶液（シノテスト社製の抗HBs、 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でpH7の10mMリン酸緩衝液に溶解したもの）20 μl を、もう一方にはTP抗原溶液（Infection and Immunity 56巻、2号、490-498頁、1988年に従って $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で調製したもの）20 μl を、ピペットを用いて載せて接触させ、37℃で3時間静置することにより固定化を行った。次いで、各々の溶液をピペットで吸引除去後、0.5%(w/v)カゼインを含むトリス緩衝液（pH7.5, 50mM）（以下、これを希釈液Aという）0.3mlずつをここに加えて、4℃で一晩放置し、これらをピペットで吸引除去することにより、マスキングを行った。そして、この板状体の手前の端の上にアクリル樹脂押出板4（幅25mm、奥行き50mm、厚さ1mm）〔アクリサンデー社製〕を溶剤で貼り合わせることに、図7のBに示したように板状体にカバーをした。このようにして、溝の底面に特異的結合物質である抗HBs抗体及びTP抗原によりそれぞれ被覆された2つの判定部を有する測定器具を作製した。

【0102】(2) 抗HBs抗体及びTP抗原固定粒子の作製

① 抗HBs抗体固定粒子の作製

粒子（磁性粒子）〔Dynabeads M-450 uncoated、ダイナ

ル社製、粒径： $4.5\mu\text{m}$ 、粒径のC.V. 5%以下、比重1.5、濃度3%(w/v)〕1mlを、抗HBs抗体溶液（シノテスト社製、pH7.0の10mMリン酸緩衝液に濃度 $0.1\text{mg}/\text{ml}$ で溶解したもの）1mlと混合したものを用意し、37℃で30分間反応させた。これに希釈液Aを約20倍量加えてマスキングを行ない、得られた粒子を希釈液Aにて洗浄した。

② TP抗原固定粒子の作製

粒子（磁性粒子）〔Dynabeads M-450 uncoated、ダイナル社製、粒径： $4.5\mu\text{m}$ 、粒径のC.V. 5%以下、比重1.5、濃度3%(w/v)〕1mlを、TP抗原溶液（Infection and Immunity vol.56, No.2, p490-498, 1988に従って $0.25\text{mg}/\text{ml}$ の濃度で調製したもの）1mlと混合したものを用意し、37℃で30分間反応させた。これに希釈液Aを約20倍量加えてマスキングを行ない、得られた粒子を希釈液Aにて洗浄した。

③ HBs抗体固定粒子及びTP抗原固定粒子の混合
前記①及び②で作製した粒子を濃度が各々約0.1%(w/v)となるように希釈液Aに再分散させた。これらの粒子を1:1の割合で混合して、抗HBs抗体固定粒子及びTP抗原固定粒子の分散液を調製した。

【0103】(3) HBs抗原及び抗TP抗体の測定
HBs抗原及び抗HBs抗体が共に陰性であることが確認されている抗TP抗体陽性血清に、HBs抗原溶液（明治乳業社製のHBs抗原を、pH7.2の10mMリン酸緩衝液に $40\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で溶解したもの）を $1\text{ng}/\text{ml}$ になるように添加して試料を調製した。この試料100 μl を、上記(1)で作製した抗HBs抗体及びTP抗原固定板状体の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図7-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、上記(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子及びTP抗原固定粒子の分散液をこの抗HBs抗体及びTP抗原固定測定器具の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図7-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この測定器具の各々の判定部が形成された側面方向に磁石を配置することにより、抗HBs抗体固定粒子及びTP抗原固定粒子が各々の判定部に沿って移動するように測定器具の溝の底面の抗HBs抗体が固定されていない部分及びTP抗原が固定されていない部分から溝の底面の抗HBs抗体が固定されている判定部及びTP抗原が固定されている判定部方向に磁束密度40~60ガウスの磁場を発生させた。磁場を発生させてから3分間以内に図7のCに示すような粒子の像が認められた。これにより、試料中にHBs抗原及び抗TP抗体が存在することが確認できた。なお、HBs抗原及び抗TP抗体陰性血清を試料として用いて測定した場合には粒子の像は認められなかった。

【0104】〔実施例2〕

（血液試料中のHBs抗原の半定量）

(1) 抗HBs抗体固定測定器具の作製

実施例1と同様にして、2本の溝が設けられた板状体を作製した。この板状体の溝の手前の端から5mmより10mmの部分に、一方には抗HBs抗体溶液（シノテスト社製の抗HBs抗体を1 μ g/mlの濃度でpH7の10mMリン酸緩衝液に溶解したもの）20 μ lを、もう一方には抗HBs抗体溶液（シノテスト社製の抗HBs抗体を、10 μ g/mlの濃度でpH7の10mMリン酸緩衝液に溶解したもの）20 μ lを、ピペットを用いて載せて接触させ、37℃で3時間静置することにより固定を行った。次いで、各々の溶液をピペットで吸引除去後、0.5%(W/V)カゼインを含むトリス緩衝液（pH7.5, 50mM）（以下、これを希釈液Aという）0.3mlずつをここに加えて、4℃で一晩放置し、これらをピペットで吸引除去した。そして、この板状体の手前の端の上にアクリル樹脂押出板4（幅25mm、奥行き50mm、厚さ1mm）〔アクリサンデー社製〕を溶剤で貼り合わせることに、図8のBに示したように板状体にカバーをした。このようにして、溝の底面に異なる濃度の特異的結合物質（抗HBs抗体）による2つの判定部が形成された測定器具を作製した。

【0105】(2) 抗HBs抗体固定粒子の作製

粒子（磁性粒子）〔Dynabeads M-450 uncoated、ダイナル社製、粒径：4.5 μ m、粒径のC.V. 5%以下、比重1.5、濃度3%(w/v)〕1mlを、抗HBs抗体溶液（シノテスト社製、pH7.0の10mMリン酸緩衝液に濃度0.1mg/mlで溶解したもの）1mlと混合し、37℃で30時間反応させた。ここに希釈液Aを約20倍量ずつ加えてマスキングを行なった。次いで、得られた粒子を希釈液Aにて洗浄し、粒子を濃度が約0.1%(w/v)となるように希釈液Aに再分散させた。このようにして、抗HBs抗体固定粒子分散液を調製した。

【0106】(3) HBs抗原の測定

① HBs抗原（1ng/ml）の測定

HBs抗原及び抗HBs抗体が共に陰性である血液に、HBs抗原溶液（明治乳業社製のHBs抗原を、pH7.2の10mMリン酸緩衝液に40 μ g/mlの濃度で溶解したもの）を1ng/mlになるように添加して調製した試料100 μ lを、上記(1)で作製した抗HBs抗体固定測定器具の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図8-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この判定部に接触させたHBs抗原陽性血液を吸引除去後、上記(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子分散液をこの抗HBs抗体固定測定器具の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図8-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この測定器具の各々の判定部が形成された側面方向に磁石を配置することにより、抗HBs抗体固定粒子が移動するように測定器具の溝の底面の抗HBs抗体が固定さ

れていない部分から溝の底面の抗HBs抗体が固定されている判定部方向に磁束密度40～60ガウスの磁場を発生させた。磁場を発生させてから3分間以内に図8のCに示すような粒子の像が認められた。

② HBs抗原（50ng/ml）の測定

上記①と同様にして調製したHBs抗原濃度が50ng/mlの試料100 μ lを、上記(1)で作製した抗HBs抗体固定測定器具を用いて、上記①と同様の操作で測定した。磁場を発生させてから3分間以内に図8のDに示すような粒子の像が認められた。なお、HBs抗原陰性血液を試料として用いて測定した場合には粒子の像は認められなかった。これにより、本発明においては、試料中の被検物質（HBs抗原）を半定量できることが確かめられた。

【0107】〔実施例3〕

（血液試料中のHBs抗原の確認試験(1)）アクリル樹脂押出板1（幅25mm、奥行き60mm、厚さ1mm）〔アクリサンデー社製〕の上に2枚のアクリル樹脂押出板2（幅5mm、奥行き60mm、厚さ0.5mm）〔アクリサンデー社製〕を図9のAに示すように溶剤で貼り合わせて、図9のBに示されるような高さ0.5mmの2本の溝が設けられた測定器具を作製した。この測定器具の溝の手前の端から5mmより10mmの部分に、抗HBs抗体溶液（シノテスト社製の抗HBs抗体を5 μ g/mlの濃度でpH7の10mMリン酸緩衝液に溶解したもの）20 μ lずつを、ピペットを用いて載せて接触させ、37℃で3時間静置することにより固定を行った。次いで、各々の溶液をピペットで吸引除去後、希釈液A 0.3mlずつをここに加えて、4℃で一晩放置し、これをピペットで吸引除去した。そして、この測定器具の手前の端の上にアクリル樹脂押出板3（幅25mm、奥行き50mm、厚さ1mm）〔アクリサンデー社製〕を溶剤で貼り合わせることに、図9のBに示したように板状体にカバーをした。このようにして、溝の底面に特異的結合物質（抗HBs抗体）による2つの判定部が形成された測定器具を作製した。HBs抗原陽性血液100 μ lずつをこの抗HBs抗体固定測定器具の2本の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★印及び★★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この各々の判定部に接触させたHBs抗原陽性血液を吸引除去した。次に、抗HBs抗体液（シノテスト社製の抗HBs抗体を、希釈液Aに濃度0.1mg/mlで溶解したもの）を前記のHBs抗原陽性血液を吸引除去した抗HBs抗体固定測定器具の片方の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて片方の判定部に接触させた。その後、この判定部に接触させた抗HBs抗体液を吸引除去してから、実施例2の(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子分散液をこの抗HBs抗体固定測定器具の2本の溝のカバ

一された部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★印及び★★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この測定器具の各々の判定部が形成された側面方向に磁石を設置することにより、抗HBs抗体固定粒子が各々の判定部に沿って移動するように測定器具の溝の底面の抗HBs抗体が固定されていない部分から溝の底面の抗HBs抗体が固定されている部分（判定部）方向（図9-Cの矢印方向）に磁束密度40～60ガウスの磁場を発生させた。磁場を発生させてから3分後にこの測定器具の各々の判定部上の粒子の分布状態を確認したところ、図9のCに示すように、★印の溝では判定部に粒子の像は認められず、★★印の溝では判定部に粒子の像が認められた。これにより、試料中に真にHBs抗原が存在することが確認できた。

【0108】〔実施例4〕

（血液試料中のHBs抗原の確認試験(2)）HBs抗原陽性血液100 μ lを実施例3で作製した抗HBs抗体固定測定器具の2本の溝のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★印及び★★印部分）にピペットを用いて載せて各々の判定部に接触させた。その後、この各々の判定部に接触させたHBs抗原陽性血液を吸引除去してから、実施例2の(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子分散液に抗HBs抗体を0.1mg/mlになるように添加し、抗HBs抗体添加抗HBs抗体固定粒子分散液を調製した。この抗HBs抗体添加抗HBs抗体固定粒子分散液を前記のHBs抗原陽性血液を吸引除去した抗HBs抗体固定測定器具の2本の溝の片方（図9-Cの★印の溝）のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★印部分）にピペットを用いて載せて判定部に接触させた。また、実施例2の(2)で作製した抗HBs抗体固定粒子分散液を、先の抗HBs抗体固定測定器具のもう一方の溝（図9-Cの★★印の溝）のカバーされた部分とカバーされていない部分の境目付近（図9-Cの★★印部分）にピペットを用いて載せて判定部に接触させた。その後、この測定器具の各々の判定部が形成された側面方向に磁石を設置することにより、抗HBs抗体固定粒子が各々の判定部に沿って移動するように測定器具の溝の底面の抗HBs抗体が固定されていない部分から溝の底面の抗HBs抗体が固定されている部分方向（図9-Cの矢印方向）に磁束密度40～60ガウスの磁場を発生させた。磁場を発生させてから3分後、この板状体の各々の判定部上の粒子の分布状態を確認したところ、図9のCに示すように、★印では判定部に粒子の像は認められず、★★印では判定部に粒子の像が認められた。これにより、試料中に真にHBs抗原が存在することが確認できた。

【0109】

【発明の効果】本発明の測定器具及び測定方法によれば、試料中の被検物質の有無を、従来のように容器底面

に集まった粒子の円形の像の大小ではなく、粒子が担体の面の端部に集まるか或いは担体の面の特異的結合物質で被覆された部分に集まるかにより判定することから、被検物質濃度が低い場合であってもその判定が容易である。したがって高感度に試料中の被検物質の測定をすることができる。しかも非特異的凝集反応が生じた場合においても誤った判定を与えることはない。そして、本発明の測定器具及び測定方法によれば、粒子及び／又は担体の面への特異的結合物質の固定量を変更することにより感度を容易に変更することができるので効率が良い。従って、被検物質の濃度が低い場合においても被検物質の有無を容易に判定することができる。更に、本発明の測定器具及び測定方法によれば、試料中の複数種類の被検物質の測定を同時にしかも短時間で行うことができる。具体的には被検物質の種類にもよるが、通常、20秒～10分程度で試料中の複数種類の被検物質の有無の判定を行なうことができる。例えば、HBs抗原の場合、1ng/ml程度の濃度であっても3分間以内で測定が可能である。更に、本発明の測定器具及び測定方法によれば、半定量を簡便に短時間で行うことができる。また、本発明の測定器具及び測定方法によれば、確認試験を簡便に行うことができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】隔壁で仕切られた複数の判定部同士が連通している測定器具を示す図である。

【図2】隔壁で仕切られた複数の判定部同士が連通していない測定器具を示す図である。

【図3】隔壁で仕切られた複数の判定部同士が連通している担体を複数組み合わせた測定器具を示す図である。

【図4】隔壁で仕切られた複数の判定部同士が連通している測定器具を示す図である。

【図5】隔壁で仕切られた複数の判定部同士が連通していない測定器具を示す図である。

【図6】底面に隔壁により仕切られた複数の判定部が設けられた直方体型の容器よりなる測定器具を示す図である。

【図7】底面に溝により仕切られた複数の判定部が設けられた長方形の板状体よりなる測定器具を示す図である。

【図8】底面に溝により仕切られた複数の判定部が設けられた長方形の板状体よりなる測定器具を示す図である。

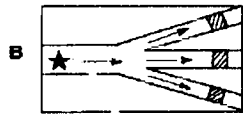
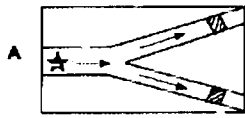
【図9】底面に溝により仕切られた複数の判定部が設けられた長方形の板状体よりなる測定器具を示す図である。

【図10】間接凝集反応測定法により試料中の被検物質の測定を行った場合の凝集像を示す図である。

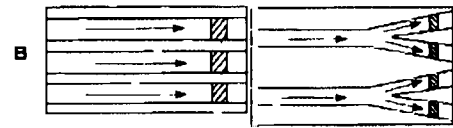
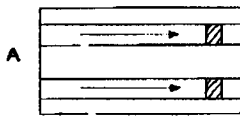
【符号の説明】

1、2、3、4：アクリル樹脂押出板

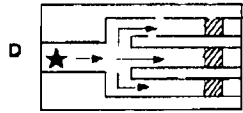
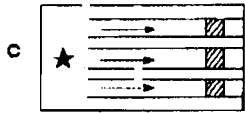
【図1】



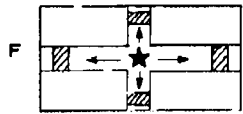
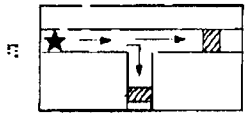
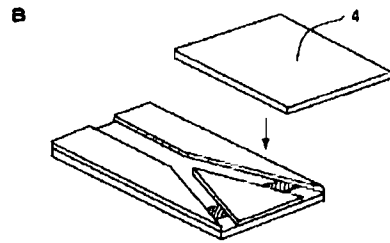
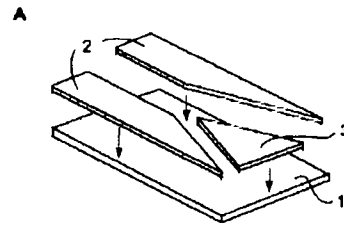
【図2】



【図3】



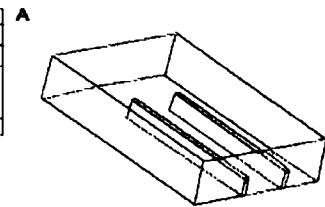
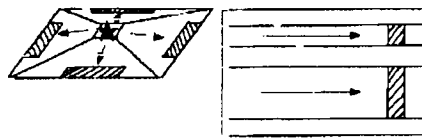
【図7】



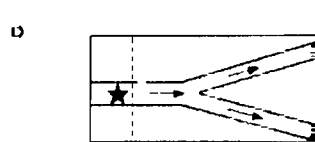
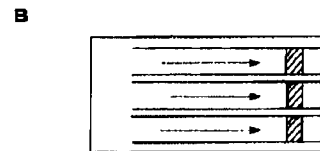
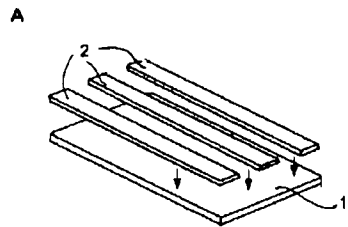
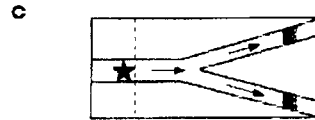
【図4】

【図5】

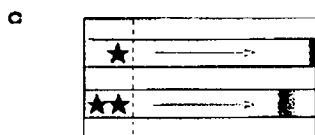
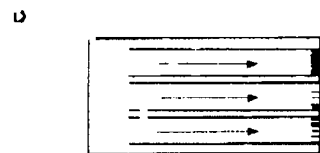
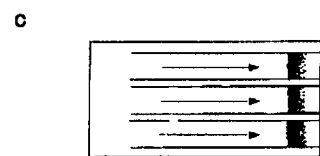
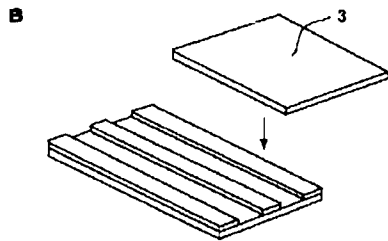
【図6】



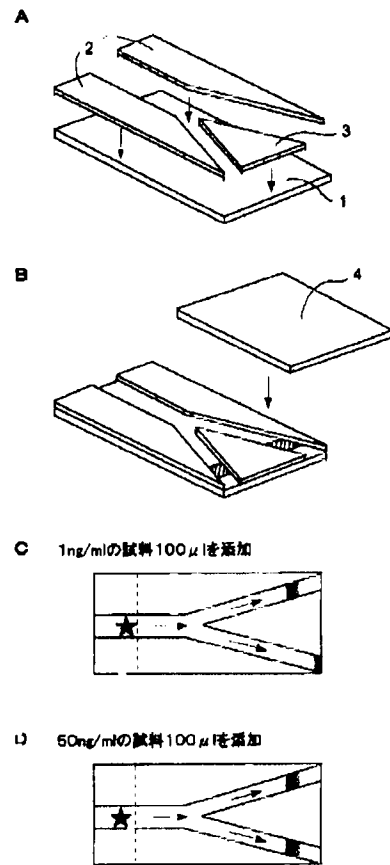
【図9】



【図10】



【図8】



PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-221799

(43)Date of publication of application : 17.08.2001

(51)Int.Cl.

G01N 33/543

G01N 33/48

G01N 35/08

G01N 37/00

(21)Application number : 2000-368440

(71)Applicant : SHINO TEST:KK

(22)Date of filing : 04.12.2000

(72)Inventor : AMADA TAKESHI
NAITO MASAHIRO

(30)Priority

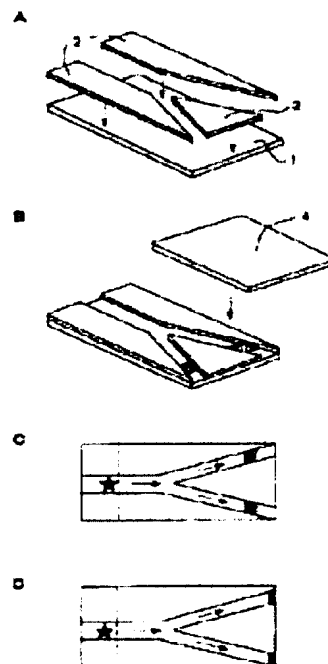
Priority number : 11344825 Priority date : 03.12.1999 Priority country : JP

(54) MEASUREMENT INSTRUMENT HAVING A PLURALITY OF DETERMINATION PARTS AND MEASUREMENT METHOD FOR SUBJECT OF TEST

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a measurement method and a measurement instrument for a subject of test capable of measuring the subject in a short time regardless of its concentration in a sample, of simultaneously measuring plural items of the subjects, and of performing semiquantitative measurement with highly reliable determination when the subject in the sample is measured through visual observation or an instrument by using a specific binding reaction such as an antigen-antibody reaction.

SOLUTION: In this measurement instrument for the subject of test in the sample, a plurality of determination parts each carrying an immobilized specific binding substance to the subject in the sample and covered with this immobilized substance are arranged on the surface of a carrier made of a non-water absorptive material, and between respective determination parts, partition walls are arranged. This measurement instrument is used for the measurement method.



DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

[0001] [Field of the Invention] This invention the judgment part which the specific binding material to the specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material, About the measuring instrument of the specimen material in the sample which carries out two or more owners to the surface of the carrier which consists of construction material of non-absorptivity, and has provided the septum between each of these judgment parts, and the measuring method using this, It is related with the measuring instrument and measuring method of a specimen material in a short time and the sample which can be measured simple to a small amount of specimen materials especially contained in samples, such as a blood sample. This invention is especially useful in fields, such as chemicals, life science, food sanitation hygiene, environmental science, and a clinical laboratory test.

[0002]

[Description of the Prior Art] The thing of versatility [a little / which are contained in the sample using the reaction between the substances which have specific compatibility, such as an antigen, an antibody and sugar, lectin and a nucleotide chain, a nucleotide chain complementary to it, ligand, and a receptor, / of a specimen material / the measuring instruments or methods] is known.

[0003] Especially, the immunological measuring method using the antigen-antibody reaction (immunoreaction) between an antigen and an antibody is enforced widely. The indirect agglutination measuring method is used widely from it being a simple and cheap method among this immunological measuring method.

[0004] The sample presumed that this indirect agglutination measuring method contains the particles (Polymer Division particles or red corpuscles, such as a latex particle or gelatin particles etc.) and specimen material which combined the antibody (it is also possible to use an antigen when a specimen material is an antibody) to a specimen material, The existence of the existence of the specimen material in a sample is judged by mixing the bottoms, such as a microtiter plate, making it react within the measuring vessel which became the shape of a U character, or the shape of a V character, and observing the condensation image between the particles through the produced specimen material.

[0005] Drawing 10 shows the condensation image at the time of measuring the specimen material in a sample with this indirect agglutination measuring method. When a specimen material does not exist in a sample (negativity), since the particles which combined the antibody (or antigen) do not cause condensation, they sediment as it is with gravity, they roll and fall over the internal surface of measuring vessels, such as the shape of a U character, or the shape of a V character, and gather in the bottom center section of the measuring vessel (sliding down). Therefore, if it sees from the upper part of a measuring vessel in a negative case, the image which particles converged on the bottom center section of the measuring

vessel will be observed (A of drawing 10). On the other hand, when a specimen material exists in a sample (positivity), the particles which the antibody (or antigen) combined cause three-dimensional condensation via a specimen material, and generate an aggregate. By being hard to roll (being hard to slide down) and rolling the internal-surface top of a measuring vessel compared with the particles which have not caused condensation, since speed (sliding down speed) is small, this aggregate stops at the internal surface of a measuring vessel according to an extended state. Therefore, if it sees from the upper part of a measuring vessel in a positive case, particles can observe the condensation image of an extended state, the shape of i.e., a "button", on the measuring vessel bottom (B of drawing 10), and it can check that a specimen material exists in a sample.

[0006]However, this indirect agglutination measuring method is judged by the size of the circular image according whether it is the existence, i.e., the positivity, or negativity of the existence of a specimen material in a sample to the particles at the bottom of a measuring vessel. Therefore, both particles which have not been combined were intermingled, and since the circle of the condensation image was small, the distinction with a negative case was difficult for the particles condensed via the specimen material in the measuring vessel bottom center section, and a specimen material, when it was a sample with low concentration of a specimen material. And the specimen material of the low concentration because of the difficulty of the judgment in the case of being a sample with low concentration of this specimen material could not be measured, and after making a condensation image form enough over many hours, in order to judge, the time which measurement takes became long, and measuring time was usually 1 hours or more.

[0007]Via the ingredient in samples other than a specimen material with an indirect agglutination measuring method, The particles which combined the antibody (or antigen) condensed, or the particles which combined the antibody (or antigen) combined with the internal surface of the measuring vessel, and there was a case where the condensation image [like / (positivity)] to which a specimen material exists in spite of a specimen material not existing (negativity) in a sample was shown (nonspecific agglutination reaction). Thus, it had become a serious problem in diagnosis of the illness by a clinical laboratory test that a negative sample may be judged accidentally to be a positivity.

[0008]On the other hand, to JP,S64-69954,A. A sample sample is added to the measuring vessel which made the antibody or antigen corresponding to the antigen or antibody which is a specimen material in a sample sample fix to a wall, The insoluble carrier particle to which the analog of the same antibody as the thing made to fix to a measuring vessel without ranking second simultaneous and washing this sample sample, the antigen, or the specific binding was made to fix is added to a measuring vessel, The immunological measuring method which judges the existence of the antigen which is a specimen material in a sample sample, or an antibody by the existence of the agglutination reaction to reveal is indicated. If the state in a measuring vessel in case the antigen (or antibody) which is a specimen material does not exist in a sample sample in this measuring method (negativity) is seen from the upper part, the condensation image shown in A of drawing 10 and the same image will be observed. If the state in a measuring vessel is seen from the upper part when the antigen (or antibody) which is a specimen material exists in a sample sample (positivity), the condensation image shown in B of drawing 10 and the same image will be observed.

[0009]Although it is a method which can control a zone phenomenon and by which the measuring method given in above-mentioned JP,S64-69954,A can measure a low-concentration specimen material, and a clear condensation image is acquired for a short time, Since the existence of the existence of the specimen material in a sample is judged by the size of the circular image by the particles at the bottom of a measuring vessel, when the concentration of a specimen material is a remarkable low sample, the problem that distinction with a negative case is difficult cannot be avoided.

[0010]The magnetic marker particles and sample solution (sample) which fixed the substances (an antibody or an antigen) which combine with a substance (specimen material) under test specifically at JP,H2-124464,A, or compete with this in the magnetic particle are mixed, The magnet arranged on the outside of the predetermined wall surface region of a measuring vessel to this reaction solution is made to act, and the immunological measuring method which measures the substance under test in a sample based on the distribution state of the magnetic marker particles brought together in the predetermined wall surface region by this is indicated. If the state in a measuring vessel is seen from the upper part when a substance under test does not exist in a sample in this measuring method (negativity), The condensation image shown in A of drawing 10 and the same image are observed, and if the state in a measuring vessel is seen from the upper part when a substance under test exists in a sample (positivity), the condensation image shown in B of drawing 10 and the same image will be observed.

[0011]According to the measuring method given in this JP,H2-124464,A, by drawing a magnetic particle near to the measuring vessel bottom with a magnet, and increasing the sedimentation velocity of a magnetic particle, the condensation image at the bottom of a measuring vessel can be made to be able to form in a short time, and the time which a judgment takes can be shortened. However, since the existence of the existence of the specimen material in a sample is too judged by the size of the circular image by the particles at the bottom of a measuring vessel, in being a sample with low concentration of a specimen material, there is no change at the point that distinction with a negative case is difficult.

[0012]The conventional indirect agglutination measuring method, a measuring method given in JP,S64-69954,A, and a measuring method given in JP,H2-124464,A, Since all judge the existence of the existence of the specimen material in a sample by the size of the circular image by the particles at the bottom of a measuring vessel, If impurity, such as red corpuscles in a sample and saburra, also rolls, and falls and keeps the internal-surface top of a measuring vessel with gravity with particles (sliding down) and the specimen material in the sample is measured when samples are blood (whole blood sample) and feces, The distribution state of particles was interrupted with impurity contained in the sample, such as red corpuscles and saburra, and it could not check, but the problem that a positive and negative judgment became difficult existed.

[0013]In an indirect agglutination measuring method, in measuring two or more specimen materials, Preparing several specimen material minutes to measure also about the particles which had to use the measuring vessel for several specimen material minutes to measure, and the antibody or antigen to a specimen material combined, operation became complicated.

[0014]This invention persons as indicated to JP,H9-229938,A, The measuring method which judges the existence of the specimen material in a sample instead of the size of the circular

image of particles gathering in a container base like before by whether magnetic particles gather for the end of the position near a magnet, i.e., a field, or it gathers for the portion covered with the specific binding material of the field of a carrier is invented.
[0015]

[Problem(s) to be Solved by the Invention]Therefore, when SUBJECT of this invention measures the specimen material in a sample using viewing or apparatus using specific binding reactions, such as an antigen-antibody reaction which is indicated to JP,H9-229938,A, It is possible to measure a specimen material for a short time, and also measuring simultaneously the specimen material which is two or more items, and a half-fixed quantity are possible, and, moreover, it is providing the reliable measuring instrument and measuring method of the judgment.

[0016]

[Means for Solving the Problem]This invention is a measuring instrument of a specimen material in a sample which carries out two or more owners of the judgment part which specific binding material to a specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material to the surface of a carrier which consists of construction material of non-absorptivity, and has provided a septum between each of these judgment parts.

[0017]This invention is a measuring method of a specimen material in a sample, and two or more owners of the judgment part which specific binding material to a specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material are carried out to the surface of a carrier which consists of construction material of non-absorptivity, a septum is provided between judgment parts of these each, and a measuring instrument of a specimen material in a sample which a judgment part of this plurality is opening for free passage mutually, To a process and a judgment part of the b. aforementioned plurality which contact a sample to a judgment part of this plurality. A process at which it is the specific binding material to a specimen material, and particles to which specific binding material fixed to said two or more judgment parts and same or different specific binding material were fixed are contacted, c. It is a measuring method (the 1st measuring method) of a specimen material in a sample characterized by measuring a specimen material from a distribution state of particles in each of two or more of said judgment parts including a process to which a surface top of said carrier is moved for said particle along with each of two or more of said judgment parts.

[0018]This invention is a measuring method of a specimen material in a sample, and two or more owners of the judgment part which specific binding material to a specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material are carried out to the surface of a carrier which consists of construction material of non-absorptivity, a process which contacts a sample to a judgment part of this plurality of a measuring instrument of a specimen material in a sample which has provided a septum between judgment parts of these each, and a judgment part of this plurality is not opening for free passage mutually. b. It is specific binding material [as opposed to a specimen material to said two or more judgment parts], A process at which particles to which specific binding material fixed to said two or more judgment parts and same or different specific binding material were fixed are contacted, c. It is a measuring method (the 2nd measuring method) of a specimen material in a sample characterized by measuring a specimen material from a distribution state of particles in each

of two or more of said judgment parts including a process to which a surface top of said carrier is moved for said particle along with each of two or more of said judgment parts.

[0019] This invention is a measuring method of a specimen material in a sample, and two or more owners of the judgment part which specific binding material to a specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material are carried out to the surface of a carrier which consists of construction material of non-absorptivity, a septum being provided between judgment parts of these each, and a judgment part of this plurality being mutually open for free passage, and, A particle attaching part holding particles to which it is the specific binding material to a specimen material, and specific binding material fixed to a judgment part of this plurality and same or different specific binding material were fixed to this particle attaching part of a measuring instrument of a specimen material in a sample which it has on extension of a judgment part of this plurality a sample. A process which contacts a mixture of a sample and particles to a judgment part of this plurality after making it contact, b. It is a measuring method (the 3rd measuring method) of a specimen material in a sample characterized by measuring a specimen material from a distribution state of particles in each of two or more of said judgment parts including a process to which a surface top of said carrier is moved for said particle along with each of two or more of said judgment parts.

[0020] This invention is a measuring method of a specimen material in a sample, and two or more owners of the judgment part which specific binding material to a specimen material in a sample was fixed, and was covered with this specific binding material are carried out to the surface of a carrier which consists of construction material of non-absorptivity, a septum being provided between judgment parts of these each, and a judgment part of this plurality not being mutually open for free passage, and, Furthermore. A particle attaching part holding particles to which it is the specific binding material to a specimen material, and specific binding material fixed to a judgment part of this plurality and same or different specific binding material were fixed to a particle attaching part of this plurality of a measuring instrument of a specimen material in a sample which it has on extension of a judgment part of this plurality, respectively a sample. It is a measuring method (the 4th measuring method) of a specimen material in a sample characterized by measuring a specimen material from a distribution state of particles in each of two or more of said judgment parts including a process to contact and a process to which a surface top of said carrier is moved for the b. aforementioned particles along with each of two or more of said judgment parts.

[0021]

[Embodiment of the Invention][1] Which thing may be used as long as it is living body related substances, such as protein, sugar, lipid, an organic substance like nucleic acid, and mineral matter, as a specimen material which measures in measuring-instrument (1) specimen-material this invention of the specimen material in a sample. Specifically An HBs antigen, an anti-HBs antibody, an HBe antigen, an anti-HBe antibody, Virus-related an antigen or antibodies, such as an anti-HBc antibody, an anti HCV antibody, an anti-HIV antibody, and an anti-ATLV antibody; An Escherichia coli O-157 antigen, Bacteria-related an antigen or antibodies, such as the anti-Treponema pallidum (TP) antibody, an anti-mycoplasmal antibody, and an anti-streptolysin O antibody (ASO); Immunoglobulin G (IgG), Immunoglobulins, such as gamma A-globulin (IgA), gamma M-globulin (IgM), or gamma E-globulin (IgE); C-reactive protein (CRP), alpha1-acidic glycopeptide, haptoglobin, the

complement C3, and the complement C4, Inflammation markers, such as a rheumatoid factor; Alpha fetoprotein, CEA, tumor marker [of CA19-9 grade]; -- hormone [, such as human placenta chorionic gonadotropin,]; -- allergen. the antigen of allergy relation, such as an allergen unique IgE antibody, or antibody; -- blood coagulation system related substance; of the antithrombin III (ATIII) etc. -- fibrinolysis system related substance; ABO blood type antibodies, such as fibrinogen and fibrin degradation products (FDP) and D dimer,. the antigen of blood group relation, such as an irregular antibody, or antibody; -- DNA of a virus, or RNA; -- bacterial DNA or RNA; -- DNA of animals, such as Homo sapiens, or vegetation, or RNA; -- other substance; drug; metal; poison or deleterious substances relevant to the illness, such as a lipoprotein (a) and ferritin, can be illustrated.

[0022](2) In sample this invention, a sample means the liquefied thing which the aforementioned specimen material may exist and tries to perform a fixed quantity depending on the check of the existence of the existence of the specimen material, or the case. For example, Homo sapiens or the blood of an animal, a blood serum, plasma, urine, sperm, cerebrospinal fluid, saliva, Body fluid, such as sweat, a tear, ascites, and amniotic liquid; Organs, such as a brain of Homo sapiens or an animal, hair, The extract of the extract; vegetation of the extract of the feces of extract; Homo sapiens or animals, such as the skin, a nail, muscles, or nervous tissue, a suspension; cell, or a biomass; Grain, Samples for environmental analysis, such as suspension of drinks, such as foodstuffs, such as vegetables, fruit, fish and shellfishes, meat, or a processed food, water, tea, coffee, cow's milk, or fruit juice, and drinking water, river water, lake water, sea water, or soil, etc. are mentioned.

[0023](3) In specific-binding-material this invention, the specific binding material (it may only be hereafter called specific binding material.) to a specimen material refers to the substance which has compatibility to a specimen material, and refers to the substance stably combined with this specimen material in noncovalent bond by a specific interaction with a specimen material. For example, specific binding material is the antibody when a specimen material is an antigen, when a specimen material is an antibody, it is an antibody to the antigen or its antibody, and when a specimen material is a nucleotide chain, it is it and a complementary nucleotide chain. Here, with an antibody, the fragment made from an antibody, for example, Fab, F(ab')₂, etc. are contained. It is the receptor when a specimen material is ligand. As long as combination through a specimen material is possible for the specific binding material fixed to a carrier, it may be the same as the specific binding material fixed to the particles in this invention respectively, or may differ.

[0024](4) as a carrier, by fixing specific binding material, carry out two or more owners of the judgment part covered with this specific binding material, and use the carrier which has provided the septum between the judgment parts of these each in carrier ** carrier this invention. As long as solutions (fluid), such as a sample, can be contacted to the judgment part of this plurality, which shape and structure may be sufficient as a carrier, for example, a container, a plate, etc. are mentioned.

[0025]If the construction material of a carrier is a thing of the construction material of the non-absorptivity which can fix specific binding material physically or chemically on the surface of a carrier, it will not be restricted at all, For example, the construction material of non-absorptivity, such as glass, polystyrene, polyvinyl chloride, polyacrylate, polypropylene, nylon, polyethylene, polycarbonate, and polymethacrylate, is mentioned.

[0026]** When using a container as a judgment part carrier, which shape, such as hemispherical, cylindrical shape, and rectangular parallelepiped shape, may be sufficient as the shape of the crevice of a container, and it should just cover the internal surface of the crevice with specific binding material. When the shape of a crevice is the shape which has flat bottom sides, such as cylindrical shape and rectangular parallelepiped shape, it is preferred to cover the flat bottom side with specific binding material. It is the container provided with at least one crevice which has a flat bottom side as a container, and it is preferred that the flat bottom side is covered with specific binding material. As a container provided with at least one crevice which has a flat bottom side, a flat bottom microplate, a tray, etc. are mentioned, for example.

[0027]When using a plate as a carrier, circular, a rectangle, a square, etc. may be which shape and the shape of surface type of a plate should just cover the surface with specific binding material.

[0028]In this invention, the septum is provided among two or more judgment parts covered with specific binding material. Here, a septum means what can divide between each judgment parts, for example, a wall, a slot, etc. are mentioned. The duty which introduces solutions (fluid), such as a sample, into two or more judgment parts has also achieved this septum. The length and width of this septum, and the depth can be suitably decided in the range which does not have trouble in measurement.

[0029]Drawing 1 and drawing 2 show the example of the measuring instrument of this invention in which such a septum was provided, and each arrow shows the example of the direction into which the sample in the case of moving solutions (fluid), such as a sample, flows on the surface of a carrier.

[0030]In this invention, that the judgment parts divided with the septum are open for free passage means that solutions (fluid), such as a sample, can go now back and forth in each judgment parts like for example, drawing 1-A-F. Drawing 2 - A and B illustrate the carrier which the judgment parts divided with the septum are not opening for free passage. In drawing 1-A-F, it is possible to supply solutions (fluid), such as a sample, to all of two or more judgment parts by supplying solutions (fluid), such as a sample, to * seal portion for example. In this invention, it can also be considered as one carrier by combining two or more things which the judgment parts illustrated above are opening for free passage. It is drawing 3 which illustrated the carrier in this case.

[0031]By making higher than the position provided in the judgment part the position (* seal portion) which supplies solutions (fluid), such as a sample, as shown in drawing 4, when contacting solutions (fluid), such as a sample, to two or more judgment parts in this invention, * It is possible to supply a sample to each judgment part with gravity using the inclination of a seal portion and a judgment part.

[0032]In this invention, as long as the shape and area of a judgment part which were covered with specific binding material can judge the existence of the specimen material in a sample, there is no restriction in particular.

[0033]In this invention, it is preferred to face to provide a judgment part on the surface of a carrier, and to provide this judgment part on the surface of a carrier selectively. This is because judgment of that it is positive becomes clearer and positive and negative distinction, i.e., distinction of the existence of the specimen material in a sample, becomes easy by

comparison of the image of the portion covered with specific binding material, and the portion which has not been covered, when a specimen material exists in a sample (i.e., when it is positive). Here, the judgment part is unevenly distributed with "it is partial", and it says that it is not a judgment part over the whole surface of a carrier. For example, the case where make the single-sided half of the surface of a carrier into a judgment part, or a judgment part is provided in band-like on the surface of a carrier is mentioned.

[0034]Immobilization to the surface of the carrier of specific binding material can be performed by the chemical-bonds method by a physical adsorption process or crosslinking reagents, such as a hydrophobic bond and hydrophilic adsorption, etc., etc. When based on a physical adsorption process, it can carry out by contacting the specific binding material which dissolved in buffer solution etc., and the field of a carrier in accordance with a publicly known method. For example, what is necessary is to carry out suction removal of the liquid of a crevice, and for buffer solution etc. just to wash, after making it contact by putting the specific binding material which dissolved in buffer solution etc. into the crevice of this container, and settling it and making an adsorption reaction perform for about 10 minutes - about one day at about 2 ** - about 40 **, when a carrier is a container.

[0035]When carrying out by the chemical-bonds method by a crosslinking reagent, The edited by Japan Society of Clinical Pathology "immunoassay art for a clinical pathology special issue special edition No. 53 clinical laboratory test, and application -", a clinical pathology publication meeting, and 1983, In accordance with the publicly known method of a description in the edited by Japanese Biochemical Society "new chemical experiment lecture 1 protein IV", Tokyo Kagaku Dojin, 1991, etc., The specific binding material and the carrier to a specimen material Glutaraldehyde, a carbodiimide, It is fixable by mixing [the crosslinking reagent of bivalencies, such as imidester and maleimide and], making it contact, and making it react to specific binding material, each amino group of a carrier, a carboxyl group, a thiol group, an aldehyde group, a hydroxyl group, etc. For example, when a carrier is a container, the crosslinking reagent of bivalencies, such as glutaraldehyde, a carbodiimide, imidester, and maleimide, is made to settle [it adds it and] and react to the crevice of this container. Subsequently, it is made to react by added and settling specific binding material on this. A reaction is stopped by adding the reaction stop agent of crosslinking reaction to this after that depending on the case etc. And buffer solution etc. wash.

[0036]As a method of covering the surface of a carrier with specific binding material selectively, and forming a judgment part in this invention, For example, a method which trickles specific binding material and/or a crosslinking reagent only into a portion to make into the judgment part of a carrier surface, and is fixed with a described method, A method which encloses the circumference of a portion to make into the judgment part of a carrier surface with a plastic sheet etc., trickles specific binding material and/or a crosslinking reagent into this surrounded portion, and is fixed with a described method, Or absorbers, such as sponge, are made to absorb specific binding material and/or a crosslinking reagent, and the method etc. which are placed and contacted into a portion to make into the judgment part of a carrier surface, or apply and are fixed with a described method are mentioned.

[0037]In this invention, a half-fixed quantity becomes possible easily according to the height of the concentration of the specimen material in a sample by changing the fixed quantity to the carrier surface of the specific binding material in each judgment part in two or more

judgment parts. For example, when specific binding material is fixed to a carrier, if the specific binding material of high concentration [one] of two or more judgment parts is used, fixed quantity increases and sensitivity can be raised. If low-concentration specific binding material is used for another judgment part, fixed quantity can decrease and sensitivity can be reduced. By this, when the concentration of the height of the concentration of the specimen material in a sample, i.e., a specimen material, is high, A half-fixed quantity of the specimen material in a sample becomes possible by setting up suitable conditions as a judgment part with much fixed quantity of specific binding material can also detect few judgment parts and the concentration of a specimen material can detect it only in a judgment part low [of fixed quantity] in many cases.

[0038]In order to inhibit a nonspecific reaction if necessary, bovine serum albumin, The carrier which fixed specific binding material may be masked by publicly known methods, such as contacting various protein, such as a human serum albumin, casein, or its salt, powdered skim milk, etc. to the judgment part which fixed specific binding material. When a carrier is a container, a judgment part to the crevice of this container it has For example, bovine serum albumin, It can carry out by adding and settling the buffer solution containing various protein, such as a human serum albumin, casein, or its salt, etc., and carrying out suction removal of the liquid of a crevice, after coating with various protein etc. the surface of the crevice of the container which has a judgment part.

[0039](6) In particle ** particle this invention, the particles generally used for indirect agglutination can be used as particles. For example, inorganic polymer particles, such as organic high polymer particles, such as liposome, a latex particle, gelatin particles, polyacrylamide particles, a microcapsule, and an emulsion, a glass bead, silica beads, and bentonite, other artificial particles, or red corpuscles can be mentioned.

[0040]A magnetic particle can also be used as particles. This magnetic particle should just be particles to magnetize while making the magnet act from the exterior at least. As this magnetic particle, for example Ferromagnetic metal, such as iron, cobalt, and nickel, The thing containing the alloy containing the ferromagnetic metal of these, and the alloy which contains ferromagnetic metal or ferromagnetic metal in the nonmagnetic inside of the body, The particles which fabricated independently ferromagnetics, such as what contains a nonmagnetic material in the alloy containing the inside of ferromagnetic metal, or ferromagnetic metal, to particle state, The surface by using a ferromagnetic as a core Polystyrene, silica gel, gelatin, The particles, polystyrene which were covered with polymeric materials, such as polyacrylamide, The particles etc. which enclosed the ferromagnetic with the saccate substance which the particles which covered the ferromagnetic by using the particles of polymeric materials, such as silica gel, gelatin, and polyacrylamide, as a core, red corpuscles, liposome, or a microcapsule closed can be mentioned. This magnetic particle is magnetized while making the magnet act from the exterior, It is preferred that it is especially a thing with the character promptly demagnetized by interception of the magnet from the outside, and as such a magnetic particle, For example, "DynabeadsM-450 uncoated (trade name)" (made by a dynal company) which is the magnetic particle which distributed in particles iron(III) oxide (Fe_2O_3) which is a ferromagnetic is mentioned. [0041]As particles, the thing colored by covering coloring matter or making coloring matter distribute or enclose in particles may be used.

[0042]the particle diameter of particles is 0.01 - 100 μm preferably -- especially -- desirable -- -- it is 0.5-10 micrometers. The specific gravity of particles should just be specific gravity which sediments in carrier fluid, for example, its thing of the specific gravity 1-10 is preferred.

[0043]In this invention, although the particles which fixed specific binding material are used, in order to fix specific binding material to particles, concomitant use of chemical-bonds methods, such as physical adsorption processes, such as a hydrophobic bond and hydrophilic adsorption, and a covalent bond, or these methods, etc. can perform specific binding material on the surface of the aforementioned particles.

[0044]When performing immobilization to the particles of specific binding material with a physical adsorption process, it can carry out by mixing and contacting this specific binding material and particles in solutions, such as buffer solution, in accordance with a publicly known method. For example, what is necessary is for buffer solution etc. just to wash the obtained particles, after making it contact by mixing and stirring specific binding material and particles in solutions, such as buffer solution, and making an adsorption reaction perform for about 10 minutes - about one day at about 2 °C - about 40 °C.

[0045]When performing immobilization to the particles of specific binding material by the chemical-bonds method by a crosslinking reagent, The immunoassay art for a clinical pathology special issue special edition No. 53 clinical laboratory test, "application [-]" clinical pathology publication meeting edited by the Japan Society of Clinical Pathology, and 1983, In accordance with the publicly known method of a description in the edited by Japanese Biochemical Society "new chemical experiment lecture 1 protein IV", Tokyo Kagaku Dojin, 1991, etc., Specific binding material and particles Glutaraldehyde, a carbodiimide, imidester, It is fixable by mixing [the crosslinking reagent of bivalencies, such as maleimide, and], making it contact, and making functional groups, such as specific binding material, each amino group of particles, a carboxyl group, a thiol group, an aldehyde group, a hydroxyl group, react to a crosslinking reagent. For example, the crosslinking reagent of bivalencies, such as glutaraldehyde, a carbodiimide, imidester, and maleimide, is added to the buffer solution containing particles, and is made to stir and react to them. Next, specific binding material is added to this and made to stir and react to it. A reaction is stopped by adding the reaction stop agent of crosslinking reaction by processing of dialysis, gel filtration, etc. to this after that depending on the case, removing a crosslinking reagent etc. And what is necessary is for buffer solution etc. just to wash the obtained particles.

[0046]According to the height of the concentration of the specimen material in a sample, sensitivity can be easily changed by changing the fixed quantity to the particles of specific binding material. For example, when specific binding material is fixed to particles, if high-concentration specific binding material is used, fixed quantity increases and sensitivity can be raised.

[0047]When specific binding material is fixed to particles, the specific binding material to two or more kinds of specimen materials may be made to fix to particles simultaneously, or the specific binding material to two or more kinds of specimen materials may be made to fix to respectively separate particles.

[0048]In order to inhibit a nonspecific reaction if necessary, this particle may be masked by publicly known methods, such as contacting various protein, such as bovine serum albumin, a

human serum albumin, casein, or its salt, powdered skim milk, etc. to the particles which fixed specific binding material. For example, masking can be performed by settling the particles which fixed specific binding material in addition to the buffer solution containing various protein, such as bovine serum albumin, a human serum albumin, casein, or its salt, etc., and coating the surface of this particle with various protein etc. [0049]** In particle attaching part this invention, the particle attaching part holding the particles which fixed specific binding material can be installed in a carrier. It is made to make particles hold until this particle attaching part contacts a sample. Although this particle attaching part needs to be installed on extension of each judgment part, there is no restriction in particular about shape and a size. Although I hear that it is installed on this extension of a judgment part of each and it is, when a sample is contacted to a particle attaching part, I hear that this is installed in particles or the position which can be further moved to each judgment part by the sample, and there is. For example, a particle attaching part is installed in the upper stream (upper part) of the direction to which you want to move the sample of each judgment part in using a container as a carrier, or its periphery, and when a sample is contacted to a particle attaching part, this sample and particles may enable it to move to each judgment part of a carrier. In using a plate as a carrier, it installs a particle attaching part upstream of the direction to which you want to move a sample, for example, and when a sample is contacted to a particle attaching part, this sample and particles may enable it to move to each judgment part of a carrier. A particle attaching part may have more than one, or the number of them may be one.

[0050]After, impregnating a porous water absorption body with the particle dispersion liquid which made suitable carrier fluid distribute particles for example, it can be made to be able to dry, and this particle attaching part can be produced. Said particle dispersion liquid may be molded in tablet form by methods, such as freeze-drying, without impregnating with a porous water absorption body. Spreading etc. may be directly carried out to a carrier, said particle dispersion liquid may be carried, and this may be dried by methods, such as freeze-drying. As carrier fluid of particles, various buffer solution or physiological salines, such as tris(hydroxymethyl) aminomethane buffer solution, a phosphate buffer solution, and phosphate buffered saline, etc. can be used, for example. About the pH of this buffer solution, it is preferred that it is in pH four to 12 within the limits.

[0051]As a porous water absorption body, for example Papers, such as a filter paper, a paper towel, or tissue paper. As long as it consists of material with the character which absorbs fluids, such as chemical fibers, such as porous bodies, such as a glass fiber filter and sponge, rayon, or polyester, cloth, a nonwoven fabric, or cotton, what kind of thing may be used. There is no restriction in particular about the shape of this porous water absorption body, and a size.

[0052]As a method of impregnating said porous water absorption body with said particle dispersion liquid, it can carry out by methods, such as immersion and a spray, for example. The porous water absorption body impregnated with these particle dispersion liquid may be air-dried using freeze-drying, settlement, or a dryer.

[0053][2]What is necessary is for the following operations just to perform the 1st and 2nd measuring methods of the 1st and 2nd measuring method this inventions by this invention.

[0054](1) In the 1st and 2nd measuring methods by process this invention which contacts a

sample to two or more judgment parts, first, in the measuring instrument which carries out two or more owners of the judgment part which was explained in full detail previously, and which fixed specific binding material and was covered with this specific binding material to the surface of the carrier which consists of construction material of non-absorptivity, and has provided the septum between the judgment parts of these each, The sample by which existence of a specimen material is suspected by the judgment part of this plurality of a carrier is contacted.

[0055]Here, as long as it is a position which a sample can move to each judgment part as a position which adds a sample, a sample may be added anywhere. For example, each judgment part and sample can be contacted by contacting a sample to two or more judgment parts directly, or adding a sample upstream of each judgment part etc. in the light of the move direction of a sample. The upper streams of this judgment part are parts other than a judgment part, and are positions with possible making it move to two or more judgment parts, and making it contact by leaning a carrier automatically [sample / which was contacted] etc. in the aforementioned carrier. For example, the part on the same flat surface as two or more judgment parts or the part connected by two or more judgment parts, slots, etc. can be mentioned. When using a container as a carrier, each judgment part and sample on the internal surface of the crevice of a container can be contacted by adding a sample to the crevice of this container, for example. When using a plate as a carrier, each judgment part and sample can be contacted by contacting a sample to two or more judgment parts directly, or, for example, adding a sample upstream of each judgment part in the light of the move direction of a sample.

[0056]When two or more judgment parts are open for free passage, it may be made to contact this sample to other judgment parts, after contacting a sample to one of two or more of the judgment parts. Since a sample can be supplied to all of two or more judgment parts only by supplying a sample to the part of * seal shown in drawing 1-A-F when two or more judgment parts are open for free passage like drawing 1-A-F, it is desirable.

[0057]A sample can be diluted, for example with a diluent and can be contacted to a judgment part. As a diluent of a sample, various buffer solution or physiological salines, such as tris(hydroxymethyl) aminomethane buffer solution, a phosphate buffer solution, and phosphate buffered saline, etc. can be used. About the pH of this buffer solution, it is preferred that it is in pH four to 12 within the limits.

[0058]To the diluent of a sample, bovine serum albumin, a human serum albumin, Various salts, such as various protein, such as casein or its salt, and sodium chloride, Additive agents, such as various surface-active agents, such as various antiseptics, such as various animal blood serums, such as various sugars, powdered skim milk, and a normal rabbit serum, and sodium azide, a nonionic surfactant, both ionic surfactants, and an anionic detergent, can be added suitably, and it can use.

[0059]And although the concentration in particular at the time of adding these additive agents is not limited, it is desirable, and is especially desirable. [0.01 to 5% (w/v) of] [0.001 to 10% (w/v) of]

[0060]As a surface-active agent, a sorbitan fatty acid ester, a glycerine fatty acid ester, A deca glycerine fatty acid ester, polyoxyethylene sorbitan fatty acid ester, Polyoxyethylene glycerine fatty acid ester, polyethylene glycol fatty acid ester, Polyoxyethylene alkyl ether, a

polyoxyethylene phytosterol, Polyoxyethylene phytostanol, polyoxyethylene alkyl phenyl ether, Nonionic surfactants, such as polyoxyethylene castor oil, hydrogenated castor oil, and polyoxyethylene lanolin, Anionic detergents, such as ampholytic surface active agents, such as an acetic acid betaine, polyoxyethylene-alkyl-ether sulfate, or polyoxyethylene-alkyl-ether acetate, etc. can be mentioned.

[0061]As mentioned above, after contacting a sample to the judgment part of a carrier, the sample contacted to this judgment part may be removed. Removal of the sample contacted to this judgment part contacts the sample absorber which consists of absorptivity material in the sample on the surface of a carrier, or each judgment part, and makes a sample absorb, or. It can carry out by sucking up the sample on the surface of a carrier, or each judgment part with a pipette etc., or turning a carrier over and dropping a sample downward etc. As a sample absorber which consists of absorptivity material, For example, papers, such as a porous absorber, a filter paper, a paper towel, or tissue paper. As long as it consists of material with the character which absorbs fluids, such as chemical fibers, such as porous bodies, such as a glass fiber filter, a high-polymer absorbent, and sponge, rayon, or polyester, cloth, a nonwoven fabric, or cotton, what kind of thing may be used. There is no restriction in particular about the shape of this sample absorber, and a size.

[0062]Contact a sample absorber in the sample on the surface of a carrier, or each judgment part, and make a sample absorb, or. In removing the sample which sucked up the sample on the surface of a carrier, or each judgment part with the pipette etc., and was contacted to each judgment part, it is preferred to make a sample absorb from the lower stream or the horizontal direction of the judgment part of each this with which the direction to which the sample moves, i.e., specific binding material, was covered, or to suck up so that a sample can move smoothly in each judgment part top covered with specific binding material.

[0063]After removing the sample contacted to each judgment part, an above-mentioned diluent or buffer solution of a sample, etc. may wash the surface of this carrier.

[0064](2) the process which contacts particles to two or more judgment parts -- as mentioned above, contact the particles to which it is the specific binding material to a specimen material, and the specific binding material fixed to said carrier and the same or different specific binding material were fixed to the judgment part of this plurality after contacting a sample to two or more judgment parts. Here, as long as it is a position which particles can move to each judgment part as a position which adds particles, particles may be added anywhere. For example, each judgment part and particles can be contacted by contacting particles to two or more judgment parts directly, or adding particles upstream of each judgment part etc. in the light of the move direction of particles. The upper streams of this judgment part are parts other than a judgment part, and are positions with possible making it move to two or more judgment parts, and making it contact making a magnet the contacted particles act automatically, by leaning a carrier, etc. in the aforementioned carrier. For example, the part on the same flat surface as two or more judgment parts or the part connected by two or more judgment parts, slots, etc. can be mentioned. When using a container as a carrier, each judgment part and particles on the internal surface of the crevice of a container can be contacted by adding particles to the crevice of this container, for example. When using a plate as a carrier, each judgment part and particles can be contacted by contacting particles to two or more judgment parts directly, or, for example, adding particles upstream of each judgment

part in the light of the move direction of particles. When two or more judgment parts are open for free passage, it may be made to contact this particle to other judgment parts, after contacting particles to one of two or more of the judgment parts.

[0065] Since particles can be supplied to all of two or more judgment parts only by supplying particles to the part of * seal shown in drawing 1-A-F when two or more judgment parts are open for free passage like drawing 1-A-F, it is desirable.

[0066] The particles to which a specimen material or its analog was made to fix may be used instead of the particles which fixed specific binding material. It is a substance which a part of structure of what the substance different from the analog of a specimen material to a part of specimen material and a specimen material combined, and a specimen material was replaced here, has the structure of the portion combined with the specific binding material of a specimen material, and can be combined with specific binding material. For example, when a specimen material is an antigen, the substance containing the antigenic determinant of this antigen can be mentioned as an analog of this specimen material.

[0067] It can distribute, for example to suitable carrier fluid, and particles can be contacted to a carrier. As carrier fluid of particles, various buffer solution or physiological salines, such as tris(hydroxymethyl) aminomethane buffer solution, a phosphate buffer solution, and phosphate buffered saline, etc. can be used. About the pH of this buffer solution, it is preferred that it is in pH four to 12 within the limits.

[0068] The additive agent indicated by the paragraph of the diluent of the above-mentioned sample can be suitably added to carrier fluid of this particle, respectively, and it can use for it. And although the concentration in particular at the time of adding these additive agents is not limited, it is desirable, and is especially desirable. [0.01 to 5% (w/v) of] [0.001 to 10% (w/v) of]

[0069] In this invention, the mixed liquor of a sample and particles which obtained them by contacting an aforementioned sample and particles with containers, such as a test tube, beforehand may be contacted to two or more judgment parts. All may be contacted to each judgment part of a carrier as it is in part, and the mixed liquor of this sample and particles may contact a portion with high particle concentration in that particle made to sediment or it sedimented in the lower part of mixed liquor, or mixed liquor to each judgment part of a carrier.

[0070] (3) the process to which the surface top of said carrier is moved for particles along with two or more judgment parts -- as mentioned above, move the surface top of said carrier along with each of this judgment part after contacting particles to each judgment part of a carrier. The each of this judgment part thing particles are moved [a thing /] for the surface top of said carrier can be performed by carrying out by making a magnet act or leaning a carrier etc.

[0071]** When moving particles by making the moving magnet by making a magnet act act, particles use the aforementioned magnetic particle. And a magnet is made to act so that this magnetic particle may move along with each judgment part covered with specific binding material in the surface top of said carrier.

[0072] The front stirrup which contacts a magnetic particle to each judgment part of a carrier may make a magnet act, as long as the distribution state of the magnetic particle on each judgment part of a carrier can perform a positive or negative judgment, while making it contact.

[0073]When the whole surface of the carrier serves as two or more judgment parts covered with specific binding material, If it is a position to which the surface top of a carrier can be moved for a magnetic particle along with each judgment part (carrier surface), a magnet may be arranged anywhere, for example, when a judgment part is a flat surface, a magnet should be arranged on the same flat surface.

[0074]When the surface of the carrier serves as two or more judgment parts selectively covered with specific binding material, What is necessary is just to arrange on a direction [as long as it is a position which can move a magnetic particle in the direction to which you want to move the surface top of a carrier along with each judgment part, may arrange a magnet anywhere, for example,] to make it move, or the outskirts of it. When the measuring instrument which more specifically has two or more judgment parts which covered the single-sided half of the carrier surface with specific binding material, for example is used, It is preferred to arrange a magnet so that a magnetic particle may move in the direction of the portion (judgment part) covered from the portion which is not covered with the specific binding material of the carrier surface.

[0075]When a carrier surface uses the measuring instrument which has two or more judgment parts covered with specific binding material by band-like, It is preferred to arrange a magnet so that a magnetic particle may move in the direction of the portion which is not covered with specific binding material through the band-like coating part from the portion which is not covered with the specific binding material of the carrier surface (for example, arrow direction of drawing 1-A).

[0076]Which thing may be used and what is necessary is just to use a permanent magnet, an electromagnet, etc. as a magnet, if a magnetic field is generated and a magnetic particle is magnetized. Magnetic flux densities are usually 5-100, although it is dependent on the interaction of the magnetic particle to be used and the field of a carrier. It is a gauss.

[0077]When a specimen material exists in a sample, this specimen material is combined with the specific binding material fixed to the judgment part. In this case, if a magnet is made to act on a magnetic particle, this magnetic particle will be attracted by the magnet and will move in the direction of this magnet along with the judgment part of a carrier in the surface top of a carrier, but. If it meets with the specimen material combined with the specific binding material fixed to the judgment part in the process, this magnetic particle will be combined with a judgment part via the specific binding material combined with a specimen material and this, and movement will be suspended, or movement will become remarkably slow.

[0078]In the field in which the specific binding material of the carrier surface is not being fixed, movement of a magnetic particle moves in the direction of magnetic promptly depending on the interaction and magnetic field strength of these particles and a carrier surface. On the other hand, in the field (judgment part) in which the specific binding material of the carrier surface is being fixed, a big difference is produced in the movement speed of a magnetic particle in the case where it has not combined with the case where the specimen material has combined with the specific binding material currently fixed to this judgment part.

[0079]Namely, since the specific binding material currently fixed to the judgment part does not combine a specimen material when a specimen material does not exist in a sample, a magnetic particle does not show compatibility but moves in the direction of magnetic promptly like the field where specific binding material is not being fixed. Therefore, when a

specimen material does not exist in a sample, magnetic particles gather for the end of the position near a magnet, i.e., a carrier.

[0080]combining a magnetic particle with a carrier via a specimen material and specific binding material on the other hand, since the specific binding material currently fixed to the judgment part combines a specimen material when a specimen material exists in a sample -- movement -- a stop -- or it becomes remarkably late. Therefore, when a specimen material exists in a sample, magnetic particles gather for the judgment part which is the portion covered with specific binding material.

[0081]When a container is used as a carrier, the magnetic particle added by the container sediments down the crevice of a container with the specific gravity. Under the present circumstances, sedimentation of a magnetic particle may be promoted by making a magnet act in the direction of the bottom from the upper part of a container.

[0082]When making a magnet act on a magnetic particle so that a magnetic particle may move in the surface top of a carrier along with each judgment part which covered the specific binding material of the carrier, the interaction with the field of this judgment part that the magnetic particle and the specimen material have not combined is weak, and it depends for the movement speed on magnetic field strength mostly. Therefore, what is necessary is just to use the magnet which generates a strong magnetic field, when you need big movement speed, namely, when searching for a measurement result for a short time. It is also possible to measure adjusting magnetic field strength using an electromagnet.

[0083]** When making it move by leaning the move carrier by leaning a carrier, lean a carrier so that particles may move in the surface top of said carrier along with each judgment part covered with the specific binding material of the carrier. The angle which leans a carrier should just be an angle which particles move along with each judgment part covered with the specific binding material of the carrier with gravity, Although what is necessary is just to choose the angle of 90 degrees or less suitably, the angle between 25 to 90 degrees is preferred, and the angle between 45 to 65 degrees is especially preferred.

[0084]As long as the distribution state of the particles on the judgment part of a carrier can perform a positive or negative judgment, the front stirrup which contacts particles to the judgment part of a carrier may lean a carrier, while making it contact.

[0085]When the whole surface of the carrier serves as two or more judgment parts covered with specific binding material, which direction may be sufficient as the direction which leans a carrier.

[0086]What is necessary is to lean a carrier in the direction to which particles move the portion (judgment part) top covered with the specific binding material of the carrier, and just to move particles to it with gravity, when the surface of the carrier serves as a judgment part selectively covered with specific binding material. For example, what is necessary is to turn a direction to make it move down, and just to arrange a carrier. When the carrier which covered the single-sided half of the carrier surface with specific binding material, and was more specifically made into the judgment part, for example is used, a carrier is leaned so that particles may move in the direction of the portion (judgment part) covered from the portion which is not covered with the specific binding material of the carrier surface.

[0087]When a carrier surface, for example, uses the carrier used as two or more judgment parts covered with specific binding material by band-like, A carrier is leaned so that particles

may move in the direction (for example, arrow direction of drawing 1-A) of the portion which is not covered with specific binding material through that band-like coating part (judgment part) from the portion which is not covered with the specific binding material of the carrier surface (in this case, what is necessary is just to lean to the arrow direction of drawing 1-A).

[0088]When a specimen material exists in a sample, this specimen material is combined with the specific binding material fixed to each judgment part of a carrier. In this case, if a carrier is leaned so that particles may move in the surface top of this carrier along with each judgment part covered with the specific binding material of the carrier, this particle will move to down [of inclination] along with each judgment part of a carrier with gravity, but. If it meets with the specimen material combined with the specific binding material fixed to the judgment part in the process, this particle will be combined with a carrier via the specific binding material combined with a specimen material and this, and movement will be suspended, or movement will become remarkably slow.

[0089]In the field in which the specific binding material of the carrier surface is not being fixed, this particle moves to down [of inclination] promptly depending on the angle at which movement of particles tilts the interaction and carrier of these particles and a carrier surface. On the other hand, in the field (judgment part) in which the specific binding material of the judgment part is being fixed, a big difference is produced in the movement speed of particles in the case where it has not combined with the case where the specimen material has combined with the specific binding material currently fixed to this judgment part.

[0090]That is, since the specific binding material currently fixed to the judgment part does not combine a specimen material when a specimen material does not exist in a sample, particles do not show compatibility but move to down [of inclination] promptly like the field where specific binding material is not being fixed. Therefore, when a specimen material does not exist in a sample, particles gather for the down end of a carrier. combining particles with a carrier via a specimen material and specific binding material on the other hand, since the specific binding material currently fixed to the carrier surface combines a specimen material when a specimen material exists in a sample -- movement -- a stop -- or it becomes remarkably late. Therefore, when a specimen material exists in a sample, particles gather for the judgment part which is the portion covered with specific binding material.

[0091]When moving the surface top of this carrier along with each judgment part which leaned the carrier and covered the specific binding material of the carrier for particles, the interaction with the carrier surface which particles and a specimen material have not combined is weak, and it depends for the movement speed on the angle which leans a carrier mostly. Therefore, what is necessary is just to enlarge the angle which leans a carrier, when you need big movement speed, namely, when searching for a measurement result for a short time. The angle which leans a carrier may be changed temporally. When using the carrier of a plate, the speed which particles move may be changed by incurvating the plate and changing the angle of a plate.

[0092](4) Judge the existence of a specimen material from the distribution state of each of this judgment part particles after moving the surface top of this carrier along with each judgment part for which the existence of a specimen material is judged and which was covered with the specific binding material of the carrier in particles as mentioned above. The distribution state of the particles on each judgment part of this carrier, i.e., an image, can be easily checked

with a naked eye or optical readers, such as spectrometry and a microplate reader by pattern recognition.

[0093]From the upper part, C of drawing 6 is the seen figure this measuring instrument at the time of measuring about the sample (positive sample) in which a specimen material exists using the measuring instrument which consists of a rectangular parallelepiped type container with which three judgment parts divided into the bottom by the septum were provided, and D of drawing 6, It is the figure which saw this measuring instrument at the time of measuring about the sample (negative sample) in which a specimen material does not exist using the measuring instrument which consists of a rectangular parallelepiped type container with which three judgment parts divided into the bottom by the septum were provided from the upper part. In a positive case, the trap of the particles which have moved from the portion which is not covered with specific binding material at the bottom is carried out to a judgment part.

[0094]From the upper part, C of drawing 7 is the seen figure this measuring instrument at the time of measuring about the sample (sample of a positivity [specimen material / each]) in which two kinds of specimen materials exist using the measuring instrument which consists of a rectangular plate in which two judgment parts divided into the surface by the slot were provided, and D of drawing 7, It is the figure which saw this measuring instrument at the time of measuring about the sample (negative sample) in which a specimen material does not exist using this measuring instrument from the upper part. In a positive case, the trap of the particles which have moved from the portion which is not covered with the specific binding material of the bottom of a slot is carried out for corresponding to each specimen material (judgment part).

[0095]In being a measuring instrument which two or more judgment parts are not opening for free passage, according to the height of the concentration of the specimen material in a sample, a half-fixed quantity becomes possible easily by changing the width of a sample supply route etc. For example, like drawing 5, in two or more judgment parts, if a difference is provided in the area of each judgment part, the contact amount of the same one where the area of a judgment part is [but] smaller of the specimen material in the sample to a judgment part increases relatively, and the amount of supply of a sample can raise sensitivity. That is, a half-fixed quantity becomes possible by setting up suitable conditions as it can detect only in the one where area is smaller, when are detectable also in the one larger when the concentration of the specimen material in a sample is high also in the one where the area of a judgment part is smaller, and concentration is low.

[0096]When using the particles which fixed a specimen material or its analog instead of specific binding material, a result contrary to the distribution state of the positive or negative particles obtained by the 1st and 2nd measuring methods is obtained.

[0097][3]In the 3rd and 4th measuring methods by the 3rd and 4th measuring method this inventions by this invention, First, as previously explained in full detail by the measuring instrument of the specimen material in a sample, the sample by which existence of a specimen material is suspected is contacted to the particle attaching part holding the particles to which the specific binding material to the specimen material in a sample was fixed. In contacting a sample to a particle attaching part, after carrying out direct contact of the sample to this particle attaching part or contacting a sample upstream of a particle attaching part in the light

of the move direction of a sample, it may be made to contact by moving this sample to a particle attaching part. As mentioned above, if the sample by which existence of a specimen material is suspected by the particle attaching part of a carrier is contacted, it will distribute in this sample and the particles held at this particle attaching part will be desorbed from this particle attaching part. Then, it is made to move in the direction of a judgment part by leaning a carrier automatically [sample / particles and / top / of a carrier / surface] etc. Then, along with two or more judgment parts, the surface top of a carrier is moved for particles. It is as could carry out making a magnet act, by leaning a carrier, etc., and having explained by the 1st and 2nd above-mentioned measuring methods to move particles for the surface top of a carrier along with this judgment part. In the 3rd and 4th measuring methods by this invention, it is the same as that of the mode in the 1st and 2nd above-mentioned measuring methods about the thing except having described above.

[0098][5] Each measuring method and measuring instrument of a check test, in addition this invention can be used for a check test. It is the examination for checking whether when judged with a specimen material existing in a sample in measurement of a specimen material with a check test, i.e., the inside of a sample, (positivity), it is what the decision result will not depend on existence of a specimen material truly, or is depended on a nonspecific reaction. The measuring method and measuring instrument of this invention are applicable to the usual check test which measures by absorbing the specimen material in a sample with specific binding material.

[0099][6] In what is called an immuno chromatography method that is the difference from an immuno chromatography method and that is indicated to JP,H7-18878,B or JP,H9-506434,A. The construction material of absorptivity is used for the carrier, while a liquid sample flows through the detailed hole in a carrier according to capillarity, an antigen-antibody reaction is made to perform, and the existence of the existence of the specimen material in a sample is judged. On the other hand, this invention measures the specimen material in a sample by whether it gathers for the portion (judgment part) covered with the specific binding material which has particles on the surface of a carrier. Therefore, since it measures by moving the surface top of a carrier for this magnetic particle or this particle along with a judgment part making a magnet act on a carrier at a magnetic particle, using the construction material of non-absorptivity, by making gravity act on particles, etc., It differs from the principle of an immuno chromatography method intrinsically.

[0100]

[Example] Hereafter, although working example explains this invention, this invention is not limited to these working example.

[0101][Working example 1]

(Measurement of the HBs antigen in a blood sample, and TP antibody)

(1) An anti-HBs antibody and the production acrylic resin ejector plate 1 (mm [in width / 25], the depth of 60 mm, and 1 mm in thickness) of TP antigen fixed measuring instrument The trapezoid acrylic resin ejector plate 2 (mm [in width / 10], 60 mm of bases, the top chord of 30 mm, and 0.5 mm in thickness) of two sheets and the acrylic resin ejector plate 3 (15 mm of bases, 20 mm of the top chords) of an isosceles triangle which have a right angle in one angle in the top [by an AKURI Sunday company] [AKURI Sunday company make] was pasted together with the solvent, as shown in A of drawing 7, and the plate in which the branched

slot with a height of 0.5 mm surrounded by the acrylic resin ejector plates 2 and 3 as shown in B of drawing 7 was provided was produced. From the end before the slot extended to the 2-way shown in B of drawing 7 surrounded by the acrylic resin ejector plate of three sheets of this plate, from 5 mm into a 10-mm portion. To one side, 20micro of anti-HBs antibody solutions (what was dissolved in 10mM phosphate buffer solution of pH 7 by anti-HBs by Shino-Test Corp., and 5 microg/ml concentration) 1. To another side, 20micro of TP antigen solutions (what was prepared by 2.5 microg/ml concentration according to 56 Infection and Immunity, No. 2, 490 - 498 pages, and 1988) 1. It carried using the pipette, and it was made to contact and fixed by settling at 37 ** for 3 hours. Subsequently, the tris buffers which contain casein for each solution 0.5% (W/V) after suction removal with a pipette (pH 7.5, 50mM). (This is hereafter called diluent A) It masked by adding 0.3 ml at a time here, neglecting it at 4 ** overnight, and carrying out suction removal of these with a pipette. And it is the acrylic resin ejector plate 4 (mm [in width / 25], the depth of 50 mm, and 1 mm in thickness) on the end before this plate. By pasting [AKURI Sunday company make] together with a solvent, as shown in B of drawing 7, it covered to the plate. Thus, the measuring instrument which has two judgment parts covered with the anti-HBs antibody and TP antigen which are specific binding material by the bottom of the slot, respectively was produced.

[0102](2) An anti-HBs antibody and the production particles of the production ** anti-HBs antibody fixation particles of TP antigen fixed particles (magnetic particle) [Dynabeads M-450 uncoated, dynal company make, particle diameter:4.5 mum, less than C.V.5% of particle diameter, specific gravity 1.5, 3% (w/v) of concentration] What mixed 1 ml with 1 ml of anti-HBs antibody solutions (it is concentration to the Shino-Test Corp. make and 10mM phosphate buffer solution of pH 7.0 what was dissolved by ml in 0.1mg /) was prepared, and it was made to react for 30 minutes at 37 **. The diluent A washed the particles obtained by masking by adding about 20 times the amount of diluents A to this.

** The production particles of TP antigen fixed particles (magnetic particle) [Dynabeads M-450 uncoated, dynal company make, particle diameter:4.5 mum, less than C.V.5% of particle diameter, specific gravity 1.5, 3% (w/v) of concentration] What mixed 1 ml with 1 ml of TP antigen solutions (Infection and Immunity vol.56, No.2, p490-498, thing prepared by the concentration of 0.25mg/ml according to 1988) was prepared, and it was made to react for 30 minutes at 37 **. The diluent A washed the particles obtained by masking by adding about 20 times the amount of diluents A to this.

** Concentration is abbreviation respectively about the particles produced by the mixed aforementioned ** and ** of HBs antibody fixation particles and TP antigen fixed particles. Re dispersion was carried out to the diluent A so that it might become 0.1% (w/v). These particles were mixed at a rate of 1:1 and the dispersion liquid of anti-HBs antibody fixation particles and TP antigen fixed particles were prepared.

[0103](3) Into anti-TP antibody-positive blood serum with which it is checked that both an HBs antigen [and], the measurement HBs antigen of anti-TP antibody, and an anti-HBs antibody are netative. The HBs antigen solution (what dissolved the HBs antigen by Meiji Milk Product Co., Ltd. in 10mM phosphate buffer solution of pH 7.2 by 40 microg/ml concentration) was added so that it might be set to 1 ng/ml, and the sample was prepared. The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which the slot of the anti-HBs antibody which produced 100micro of this sample 1 above (1), and the TP antigen

stationary-plate-like object was covered, and the portion which is not covered (* seal portion of drawing 7-C), and each judgment part was made to contact. Then, the pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which the slot of this anti-HBs antibody and TP antigen fixed measuring instrument was covered in the dispersion liquid of the anti-HBs antibody fixation particles produced above (2) and TP antigen fixed particles, and the portion which is not covered (* seal portion of drawing 7-C), and each judgment part was made to contact. Then, by arranging a magnet to the side face direction in which each judgment part of this measuring instrument was formed, So that anti-HBs antibody fixation particles and TP antigen fixed particles may move along with each judgment part. The magnetic field with a magnetic flux density of 40-60 gauss was generated in the direction of a judgment part to which the judgment part and TP antigen in which the anti-HBs antibody of the bottom of a slot is being fixed from the portion to which the portion at the bottom and TP antigen of the slot of the measuring instrument in which the anti-HBs antibody is not being fixed are not being fixed are being fixed. Since the magnetic field was generated, the image of particles as shown within 3 minutes at C of drawing 7 was accepted. Thereby, it has checked that an HBs antigen and anti-TP antibody existed in a sample. The image of particles was not accepted when it measured using an HBs antigen and anti-TP antibody negative blood serum as a sample.

[0104][Working example 2]

(Half-fixed quantity of the HBs antigen in a blood sample)

(1) The plate in which two slots were provided was produced like production working example 1 of an anti-HBs antibody fixation measuring instrument. Into a 10-mm portion, from 5 mm from the end before the slot of this plate at one side 20micro of anti-HBs antibody solutions (what dissolved the anti-HBs antibody by Shino-Test Corp. in 10mM phosphate buffer solution of pH 7 by 1 microg/ml concentration) 1. 20micro of anti-HBs antibody solutions (what dissolved the anti-HBs antibody by Shino-Test Corp. in 10mM phosphate buffer solution of pH 7 by 10 microg/ml concentration) 1 were carried and contacted to another side using the pipette, and it fixed by settling at 37 ** for 3 hours. subsequently, every 0.3 ml of tris buffers (pH 7.5, 50mM) (this is hereafter called diluent A) which contain casein for each solution 0.5% (W/V) after suction removal with a pipette -- here -- in addition, it was neglected at 4 ** overnight and suction removal of these was carried out with the pipette. And it is the acrylic resin ejector plate 4 (mm [in width / 25], the depth of 50 mm, and 1 mm in thickness) on the end before this plate. By pasting [AKURI Sunday company make] together with a solvent, as shown in B of drawing 8, it covered to the plate. Thus, the measuring instrument in which two judgment parts by the specific binding material (anti-HBs antibody) of concentration which is different on the bottom of a slot were formed was produced.

[0105](2) production particles (magnetic particle) of anti-HBs antibody fixation particles [Dynabeads M-450 uncoated, dynal company make, particle diameter:4.5 mum, less than C.V.5% of particle diameter, specific gravity 1.5, and 3% (w/v) of concentration] It mixed with 1 ml of anti-HBs antibody solutions (it is concentration to the Shino-Test Corp. make and 10mM phosphate buffer solution of pH 7.0 what was dissolved by ml in 0.1mg /), and 1 ml was made to react for 30 minutes at 37 **. It masked by adding about 20 times the amount of diluents A at a time here. Subsequently, the diluent A washes the obtained particles and concentration is abbreviation about particles. Re dispersion was carried out to the diluent A so

that it might become 0.1% (w/v). Thus, anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid were prepared.

[0106](3) Into the blood which is negative, both the measurement HBs antigens and anti-HBs antibodies of a measurement ** HBs antigen (1 ng/ml) of an HBs antigen. 100micro of samples 1 which added and prepared the HBs antigen solution (what dissolved the HBs antigen by Meiji Milk Product Co., Ltd. in 10mM phosphate buffer solution of pH 7.2 by 40 microg/ml concentration) so that it might be set to 1 ng/ml. The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which the slot of the anti-HBs antibody fixation measuring instrument produced above (1) was covered, and the portion which is not covered (* seal portion of drawing 8-C), and each judgment part was made to contact. The HBs antigen positive blood contacted to this judgment part. Then, after suction removal, The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which the slot of this anti-HBs antibody fixation measuring instrument was covered in the anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid produced above (2), and the portion which is not covered (* seal portion of drawing 8-C), and each judgment part was made to contact. Then, by arranging a magnet to the side face direction in which each judgment part of this measuring instrument was formed, The magnetic field with a magnetic flux density of 40-60 gauss was generated in the direction of a judgment part to which the anti-HBs antibody of the bottom of a slot is being fixed from the portion to which the anti-HBs antibody of the bottom of the slot on the measuring instrument is not being fixed so that anti-HBs antibody fixation particles may move. Since the magnetic field was generated, the image of particles as shown within 3 minutes at C of drawing 8 was accepted.

** 100micro of samples 1 whose HBs antigen concentration prepared like the measurement above-mentioned ** of an HBs antigen (50 ng/ml) is 50 ng(s)/ml were measured by the same operation as the above-mentioned ** using the anti-HBs antibody fixation measuring instrument produced above (1). Since the magnetic field was generated, the image of particles as shown within 3 minutes at D of drawing 8 was accepted. The image of particles was not accepted when it measured using HBs antigen negative blood as a sample. Thereby, in this invention, it was confirmed that a half-fixed quantity of the specimen material (HBs antigen) in a sample can be carried out.

[0107][Working example 3]

(Check test (1) of the HBs antigen in a blood sample) Acrylic resin ejector plate 1 (mm [in width / 25], the depth of 60 mm, and 1 mm in thickness) It is the acrylic resin ejector plate 2 (mm [in width / 5], the depth of 60 mm, and 0.5 mm in thickness) of two sheets to the top [by an AKURI Sunday company]. [AKURI Sunday company make] was pasted together with the solvent, as shown in A of drawing 9, and the measuring instrument in which two slots with a height [as shown in B of drawing 9] of 0.5 mm were established was produced. every [20micro of anti-HBs antibody solutions (what dissolved the anti-HBs antibody by Shino-Test Corp. in 10mM phosphate buffer solution of pH 7 by 5 microg/ml concentration) 1] into a 10-mm portion from 5 mm from the end before the slot of this measuring instrument, It carried using the pipette, and it was made to contact and fixed by settling at 37 ** for 3 hours. subsequently, each solution -- a pipette -- after suction removal and the diluent A -- every 0.3 ml -- here -- in addition, it was neglected at 4 ** overnight and suction removal of this was carried out with the pipette. And it is the acrylic resin ejector plate 3 (mm [in width / 25], the

depth of 50 mm, and 1 mm in thickness) on the end before this measuring instrument. By pasting [AKURI Sunday company make] together with a solvent, as shown in B of drawing 9, it covered to the plate. Thus, the measuring instrument by which two judgment parts by specific binding material (anti-HBs antibody) were formed in the bottom of a slot was produced. The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which two slots of this anti-HBs antibody fixation measuring instrument were covered in HBs antigen positive blood every 1 [100mu], and the portion which is not covered (* seal and ** seal portion of drawing 9-C), and each judgment part was made to contact. Then, suction removal of the HBs antigen positive blood [each] contacted of this judgment part was carried out. Next, anti-HBs antibody liquid (the anti-HBs antibody by Shino-Test Corp.) The pipette was used and carried near the boundary line of the portion which is not covered [blood / aforementioned / HBs antigen positive] with the portion by which the slot of one of the two of the anti-HBs antibody fixation measuring instrument which carried out suction removal was covered in what was dissolved in the diluent A by the concentration of 0.1mg/ml (* seal portion of drawing 9-C), and judgment part of one of the two was made to contact. Then, after carrying out suction removal of the anti-HBs antibody liquid contacted to this judgment part, The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which two slots of this anti-HBs antibody fixation measuring instrument were covered in the anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid produced by (2) of working example 2, and the portion which is not covered (* seal and ** seal portion of drawing 9-C), and each judgment part was made to contact. Then, by installing a magnet in the side face direction in which each judgment part of this measuring instrument was formed, The magnetic field with a magnetic flux density of 40-60 gauss was generated in the direction (arrow direction of drawing 9-C) of a portion (judgment part) to which the anti-HBs antibody of the bottom of a slot is being fixed from the portion to which the anti-HBs antibody of the bottom of the slot on the measuring instrument is not being fixed so that anti-HBs antibody fixation particles may move along with each judgment part. 3 minutes after generating the magnetic field, when the distribution state of the particles on each judgment part of this measuring instrument was checked, as shown in C of drawing 9, in the slot of * seal, the image of particles was not observed in a judgment part, but the image of particles was observed in the judgment part in the slot of ** seal. Thereby, it has checked that an HBs antigen existed truly in a sample.

[0108][Working example 4]

(Check test (2) of the HBs antigen in a blood sample) HBs antigen positive blood 100mul near the boundary line of the portion by which two slots of the anti-HBs antibody fixation measuring instrument produced in working example 3 were covered, and the portion which is not covered (* seal and ** seal portion of drawing 9-C) a pipette. It used and carried and each judgment part was made to contact. Then, after carrying out suction removal of the HBs antigen positive blood [each] contacted of this judgment part, it added so that it might become [ml] the anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid produced by (2) of working example 2 in 0.1mg /about an anti-HBs antibody, and anti-HBs antibody addition anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid were prepared. These anti-HBs antibody addition anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid. The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which one of the two (slot of * seal of drawing 9-C) of two slots of the anti-HBs antibody fixation measuring instrument which

carried out suction removal of the aforementioned HBs antigen positive blood was covered, and the portion which is not covered (* seal portion of drawing 9-C), and the judgment part was made to contact. The anti-HBs antibody fixation particle dispersion liquid produced by (2) of working example 2, The pipette was used and carried near the boundary line of the portion by which another slot (slot of ** seal of drawing 9-C) of the previous anti-HBs antibody fixation measuring instrument was covered, and the portion which is not covered (** seal portion of drawing 9-C), and the judgment part was made to contact. Then, by installing a magnet in the side face direction in which each judgment part of this measuring instrument was formed, The magnetic field with a magnetic flux density of 40-60 gauss was generated in the direction of a portion (arrow direction of drawing 9-C) to which the anti-HBs antibody of the bottom of a slot is being fixed from the portion to which the anti-HBs antibody of the bottom of the slot on the measuring instrument is not being fixed so that anti-HBs antibody fixation particles may move along with each judgment part. 3 minutes after since a magnetic field is generated, when the distribution state of the particles on the judgment parts of this plate was checked, as shown in C of drawing 9, by * seal, the image of particles was not observed in a judgment part, but the image of particles was observed in the judgment part by ** seal. Thereby, it has checked that an HBs antigen existed truly in a sample. [0109]

[Effect of the Invention]According to the measuring instrument and measuring method of this invention, the existence of the specimen material in a sample, Since it judges by whether not size but the particles of a circular image of the particles which gathered in the container base like before gather for the end of the field of a carrier, or it gathers for the portion covered with the specific binding material of the field of a carrier, the judgment is easy even if it is when specimen material concentration is low. Therefore, the specimen material in a sample can be measured to high sensitivity. And the judgment mistaken when a nonspecific agglutination reaction arose is not given. And according to the measuring instrument and measuring method of this invention, since sensitivity can be easily changed by changing the fixed quantity of the specific binding material to the field of particles and/or a carrier, it is efficient. Therefore, when the concentration of a specimen material is low, the existence of a specimen material can be judged easily. According to the measuring instrument and measuring method of this invention, moreover, two or more kinds of specimen materials in a sample can be measured simultaneously in a short time. Although specifically based also on the kind of specimen material, the existence of two or more kinds of specimen materials in a sample can usually be judged in 20 seconds - about 10 minutes. For example, in the case of an HBs antigen, even if it is 1 ng/ml [about] concentration, it can measure within 3 minutes. According to the measuring instrument and measuring method of this invention, a half-fixed quantity can be performed simple in a short time. According to the measuring instrument and measuring method of this invention, a check test can be done simple.